



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

"ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ"

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΤΟΥ
ΔΕΡΜΑΤΟΣ ΜΕ ΕΠΙΘΕΜΑΤΑ**

ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ ΚΟΤΡΩΝΗ

ΑΘΗΝΑ

ΙΟΥΛΙΟΣ 2018

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Μιχαήλ Ράλλης

Επίκουρος Καθηγητής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας

Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΣΥΝΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Βασίλειος Ρούσσης

Καθηγητής, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων

Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας

Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιο Αθηνών

❖ ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Μιχαήλ Ράλλης

Επίκουρος Καθηγητής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας

Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιο Αθηνών

Βασίλειος Ρούσσης

Καθηγητής, Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων

Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας

Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιο Αθηνών

Παρασκευάς Δάλλας,

Επίκουρος Καθηγητής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας

Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω, από καρδιάς, όλους όσους συνέβαλαν, στην πραγματοποίηση και στην περάτωση αυτής της πτυχιακής εργασίας.

Πρώτα από όλα τους καθηγητές μου, τον επιβλέποντά μου κύριο Ράλλη Μιχαήλ, Επίκουρο Καθηγητή του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την ανάθεση του θέματος, για την εμπιστοσύνη και την εκτίμηση που μου έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας καθώς και για τη σημαντική βοήθεια και τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφερε τόσο ως καθηγητής όσο και ως άνθρωπος. Τον κύριο Ρούσση Βασίλειο, Καθηγητή του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, του Τμήματος Φαρμακευτικής, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών για την απεριόριστη στήριξη και βοήθεια και τη συνεχή καθοδήγησή του για την επιτυχή διεκπεραίωση της μελέτης.

Το εργαστήριο Φαρμακογνωσία και Χημείας Φυσικών Προϊόντων για την πραγματοποίηση των πειραμάτων και ιδιαιτέρως την κυρία Ιωάννου Ευσταθία, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων και τον κύριο Κικιώνη Στέφανο, Μεταδιδακτορικό Επιστημονικό Ερευνητή για τον άψογο σχεδιασμό των πειραμάτων, τις συμβουλές και τη διαρκή στήριξή τους σε όποιο πρόβλημα προέκυπτε κατά τη διάρκεια της μελέτης καθώς και την κυρία Κουτσαβίτη Κατερίνα, Μεταδιδακτορική Επιστημονική Ερευνήτρια, για την προσφορά γνώσεων και χρήσιμης βιβλιογραφίας.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον κύριο Παρασκευά Δάλλα, Επίκουρο Καθηγητή του τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας και μέλος της Τριμελούς Επιτροπής για τις εύστοχες παρατηρήσεις του καθώς και για τις σημαντικές γνώσεις που μου μετέδωσε μέσα από τα μαθήματα και τα εργαστήρια Τεχνολογίας που μου εμπιστεύτηκε, σε όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Ευχαριστώ ολόψυχα τον κύριο Καραλή Ευάγγελο, Επίκουρο Καθηγητή του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής για το χρόνο, την προθυμία του και τις σημαντικές συμβουλές που μου προσέφερε κατά τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων καθώς επίσης και τον κύριο Σφηνιαδάκη Ιωάννη από το εργαστήριο Παθολογοανατομίας του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών για την επεξεργασία των δερμάτων των μυών.

Ακόμη, δεν θα ήθελα να παραλείψω να ευχαριστήσω όλα τα παιδιά του εργαστηρίου Δερματοφαρμακολογίας - Κοσμητολογίας, τους συναδέλφους μου, για τη συνεργασία και για τις ευχάριστες στιγμές που είχαμε όλο αυτό το διάστημα εκπόνησης της εργασίας μου και

κυρίως τις φοιτήτριες Καραμάνη Χριστίνα, Γκαβανόζη Αθήνα και Σημηριώτη Ελευθερία των οποίων η βοήθεια και η στήριξη στάθηκαν καταλυτικές για την περάτωση των πειραμάτων.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο «ευχαριστώ» στην οικογένειά μου και στις καρδιακές μου φίλες Όλια και Λία για όλη τη στήριξη, τη συμπαράσταση και τη δύναμη που μου προσέφεραν σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Ελευθερία Κοτρώνη

Αθήνα, Ιούλιος 2018

Πίνακας περιεχομένων

ABSTRACT	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΕΡΜΑ	5
1.1. Δέρμα	5
1.2. Ιδιότητες Δέρματος.....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΗΛΙΑΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΚΑΙ ΔΕΡΜΑ	17
2.1. Ακτινοβολίες	17
2.1.1. Υπεριώδης ακτινοβολία και παρενέργειες	17
2.1.2. Μηχανισμοί προστασίας από τη UV	20
2.1.3. Ευεργετικές Επιδράσεις της UV.....	21
2.1.4. Άλλες χρήσεις της UV.....	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ	24
3.1. Οξειδωτικό Στρες	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ	28
4.1. Γενικά	28
4.2. Αντιοξειδωτικά ένζυμα	28
4.3. Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά που διακόπτουν την αλυσιδωτή αντίδραση.....	30
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΕΓΚΑΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ	34
5.1. Γενικά	34
5.2. Ηλιακά εγκαύματα (ηλιακά ερυθρήματα)	34
5.2.1. Το μοντέλο τραύματος εγκαύματος του Τζάκσον.....	35
5.3. Μέθοδοι Αντιμετώπισης των Εγκαυμάτων	37
5.4. Κλειστή μέθοδος	39
5.4.1 Επιθέματα.....	39
5.5. Ανοικτή μέθοδος	45
5.6. Πλεονεκτήματα Επιθεμάτων	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΒΙΟΣΥΜΒΑΤΑ ΚΑΙ ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΙΜΑ ΠΟΛΥΜΕΡΗ	50
6.1. Γενικά	50
6.2. Βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή.....	51

6.2.1. Φυσικά Πολυμερή	52
6.2.2. Συνθετικά πολυμερή	53
☐ Πολυαιθυλενοξείδιο (PEO)	54
☐ Αλγινικό Νάτριο (SA)	54
☐ Οξική Κυτταρίνη (CA)	55
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: <i>Pinus halepensis</i>	57
7.1. Προέλευση - Γενική περιγραφή	57
7.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά της Χαλέπειου πεύκης (Aleppo pine, <i>Pinus halepensis</i>)	57
7.3. Θεραπευτική χρήση της Χαλέπειου πεύκης (<i>Pinus halepensis</i> Mill.)	58
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΗΛΕΚΤΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΤΗΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ	60
8.1. Ηλεκτροστατική Ινοποίηση	60
8.2. Παράμετροι της διεργασίας	63
8.2.1. Εφαρμοζόμενη τάση	63
8.2.2. Ρυθμός ροής	64
8.2.3. Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα-συλλέκτη	64
8.3. Παράμετροι διαλύματος	64
8.3.1. Η συγκέντρωση του πολυμερούς	65
8.3.2. Πτητικότητα διαλύτη	65
8.3.3. Αγωγιμότητα διαλύματος	65
8.4. Περιβαλλοντικές παράμετροι	66
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ NANOΪΝΩΝ ENANTI ΑΛΛΩΝ ΕΠΙΘΕΜΑΤΩΝ. 67	
9.1. Χαρακτηριστικά των Ηλεκτροϊνοποιημένων Ινών	67
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	69
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	70
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ – ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	71
10.1. Πειραματόζωα	71
10.2. Υλικά	71
10.3. Μέθοδοι	72
Παρασκευή πολυμερικών επιθεμάτων	73
Ακτινοβολήση δέρματος μυών με υπεριώδη ακτινοβολία	73

Εφαρμογή επιθεμάτων.....	74
10.4. Μέθοδοι εκτίμησης μετρήσιμων παραμέτρων	74
10.4.1. Κλινική εικόνα – Λήψη φωτογραφιών.....	74
10.7. Περιγραφή Πειράματος.....	82
10.7.1. Σύνοψη	82
10.7.2. Παρασκευή πολυμερικών διαλυμάτων και δημιουργία επιθεμάτων.....	83
10.7.3.1. Πείραμα Α΄	87
10.7.3.2. Πείραμα Β΄	88
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	89
11. 1. Πείραμα Α΄	90
11.1.2. Αποτελέσματα Ενυδάτωσης.....	96
11.1.3. Αποτελέσματα Σμήγματος	100
11.1.4. Αποτελέσματα Ελαστικότητας.....	105
11.1.5. Αποτελέσματα Πάχους.....	110
11.5.6. Αποτελέσματα Ερυθρότητας.....	115
11.5.7. Φωτοτεκμηρίωση	120
11.5.8. Αποτελέσματα ιστοπαθολογικής μελέτης	122
11.6. Πείραμα Β΄	126
11.6.1. Αποτελέσματα TEWL	126
11.6.2. Αποτελέσματα Ενυδάτωσης.....	132
11.6.3. Αποτελέσματα Σμήγματος	138
11.6.4. Αποτελέσματα Ελαστικότητας.....	142
11.6.5. Αποτελέσματα Πάχους.....	147
11.6.6. Αποτελέσματα Ερυθρότητας.....	153
11.6.7. Φωτοτεκμηρίωση	159
11.6.8. Αποτελέσματα ιστοπαθολογικής μελέτης	161
11.7. Σύγκριση πειραμάτων Α΄ και Β΄	164
11.7.1. Αποτελέσματα TEWL	164
11.7.2. Αποτελέσματα Ενυδάτωσης.....	171
11.7.3. Αποτελέσματα Σμήγματος	176
11.7.4. Αποτελέσματα Ερυθρότητας.....	182
11.7.5. Φωτοτεκμηρίωση	189
11.7.6. Αποτελέσματα ιστοπαθολογικής μελέτης	191
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	196

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	200
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	201

ABSTRACT

Skin inflammation is associated with many diseases and skin disorders. Inflammation caused by ultraviolet radiation on normal skin and its treatment by various topical anti-inflammatory agents has been widely studied. However, treatment by topical patches remains largely unexplored.

In this study, nanofibrous polymeric patches of five different compositions were prepared by electrospinning and were studied for their anti-inflammatory activity on mice.

The experimental study was divided into two parts. Initially, electrospinning of polymeric patches that were subsequently evaluated for their anti-inflammatory activity took place. Three types of patches composed of Sodium Alginate (SA), Cellulose Acetate (CA), Polyethyleneoxide (PEO), and aqueous extract of *Pinus halepensis* were prepared at different percentages. In addition, patches of SA, CA and PEO, as well as patches of CA and PEO were electrospun. For the Control mice group a simple, sterile gauze of the same size as the other patches was used.

In the second part, the study of the anti-inflammatory effect of the produced patches took place. In particular, a single dose of ultraviolet radiation (3 M.E.D.) was initially applied to SKH-1, hairless, female mice causing a skinburn. Each *in vivo* study lasted 10 days, the first one consisting of 4 groups of 6 female mice (*P. halepensis* 8.2% w/w) and the second one consisting of 5 groups of 6 female mice (*P. halepensis* 4.25% w/w and 15.1% w/w). A patch was applied for 24 hours to each mice of the group. During the experiment, the parameters of TEWL (transepidermal water loss), hydration, sebum, redness, thickness and elasticity of the skin were also measured. On the tenth and final day after the end of the experiment, the animals were terminated and skin sections of the irradiated dorsal skin were used for histopathological observations.

The results were very promising, confirming the anti-inflammatory effect of *P. halepensis* extract, as the group treated with the patches containing the highest percentage showed significant anti-inflammatory activity and maintenance of the normal skin properties, when compared to the other groups. The above conclusions were based on the everyday clinical condition, the histopathological examination and the statistical analyses of the skin parameters measured.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φλεγμονή στο δέρμα συνδέεται με την ύπαρξη πολλών παθήσεων και δερματικών διαταραχών. Η πρόκληση φλεγμονής με την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας στο φυσιολογικό δέρμα και η αντιμετώπισή της με διάφορα τοπικά σκευάσματα, έχει αποτελέσει αντικείμενο αρκετών μελετών. Η θεραπεία της όμως με τοπική εφαρμογή επιθεμάτων παραμένει ακόμα σε μεγάλο βαθμό ανεξερεύνητη.

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης εξετάστηκαν ως προς την αντιφλεγμονώδη δράση τους σε μύες πέντε πολυμερικά επιθέματα με διαφορετική σύσταση, παρασκευασμένα με ηλεκτροστατική ινοποίηση.

Αρχικά επετεύχθη η ηλεκτροϊνοποίηση των πολυμερικών επιθεμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στη συνέχεια για την αξιολόγηση της αντιφλεγμονώδους δράσης τους. Παρασκευάστηκαν τρία επιθέματα ναοϊνών αποτελούμενα από Αλγινικό Νάτριο (SA), Οξική Κυτταρίνη (CA), Πολυαιθυλενοξειδίο (PEO) τα οποία περιείχαν εκχύλισμα δραστικής ουσίας *Pinus halepensis* σε διαφορετικά ποσοστά (*P. halepensis* 4,25% w/w, 8,2% w/w και 15,1% w/w). Ακόμη, συντέθηκε ένα επίθεμα από Αλγινικό Νάτριο (SA), Οξική Κυτταρίνη (CA) και Πολυαιθυλενοξειδίο (PEO) και ένα από Οξική Κυτταρίνη(CA) και Πολυαιθυλενοξειδίο (PEO). Στους μύες της ομάδας μαρτύρων χρησιμοποιήθηκε αποστειρωμένη γάζα ίδιων διαστάσεων με τα υπόλοιπα επιθέματα.

Η αξιολόγηση της αντιφλεγμονώδους δράσης των επιθεμάτων έγινε σε άτριχους, θηλυκούς μύες, τύπου SKH-1 οι οποίοι δέχτηκαν ακτινοβολία τριών ελάχιστων ερυθματωδών δόσεων (3 M.E.D.) και προκλήθηκε ηλιακό έγκαυμα. Το κάθε *in vivo* πείραμα είχε διάρκεια συνολικά 10 ημέρες. Πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα, το ένα με 4 ομάδες μυών των 6 ζώων (*P. halepensis* 8,2% w/w) και το άλλο με 5 ομάδες μυών των 6 ζώων (*P. halepensis* 4,25% w/w και 15,1% w/w) και σε κάθε μια ομάδα εφαρμόστηκε διαφορετικό, εικοσιτετράωρο επίθεμα. Κατά τη διάρκεια του πειράματος λαμβάνονταν ανά 3 μέρες μετρήσεις άδηλης απώλειας, ενυδάτωσης, σμήγματος, ερυθρότητας, πάχους δέρματος και ελαστικότητας του δέρματος των μυών. Τη δέκατη και τελευταία μέρα (λήξη πειράματος) αφού έγιναν οι μετρήσεις, τα ζώα θυσιάστηκαν και ελήφθησαν “strippings”(κύτταρα από την κεράτινη στιβάδα) από το σημείο της φλεγμονής και τμήματα δέρματος και αντιπροσωπευτικά δείγματα στάλθηκαν για ιστοπαθολογική αξιολόγηση. Τέλος, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση των strippings και των δερμάτων, βάσει συγκεκριμένων πρωτοκόλλων, για μελλοντική μελέτη οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών.

Τα αποτελέσματα ήταν πολύ θετικά και επιβεβαίωσαν την αντιφλεγμονώδη δράση του εκχυλίσματος φλοιού *P. halepensis*, καθώς η ομάδα στην οποία εφαρμόστηκε το επίθεμα με το μεγαλύτερο ποσοστό (*P. halepensis* 15,1% w/w) παρουσίασε – συγκριτικά με τα υπόλοιπα – σημαντική δράση έναντι της φλεγμονής και διατήρηση των φυσιολογικών ιδιοτήτων του δέρματος.

Ευεργετική επίδραση στη φυσιολογία του δέρματος αποδείχτηκε ότι είχαν όλα τα επιθέματα με συστατικό το αλγινικό νάτριο, κάτι που επιβεβαίωσε την ιδιότητα του SA ότι διατηρεί τα επίπεδα υγρασίας της πληγής φυσιολογικά.. Το συμπέρασμα αυτό προέκυψε από την κλινική εικόνα, την ιστοπαθολογική γνωμάτευση και από τη στατιστική αξιολόγηση των τιμών που ελήφθησαν από τις μετρήσεις στο δέρμα των μυών.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΕΡΜΑ

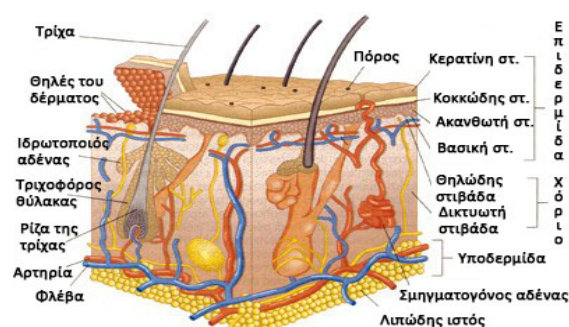
1.1. Δέρμα

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος και καλύπτει εξ ολοκλήρου την εξωτερική του επιφάνεια. Έχει επιφάνεια από 2500 cm² μέχρι 18000 cm² στους ενήλικες [1], αντιπροσωπεύει το 16% του συνολικού σωματικού τους βάρους, ενώ το πάχος του ποικίλει από άτομο σε άτομο και ανάλογα με το φύλο, την ηλικία και την ανατομική περιοχή. Οι βασικές λειτουργίες του δέρματος είναι:

- Προστατεύει τον οργανισμό από τη θερμότητα, την υπεριώδη ακτινοβολία, τους τραυματισμούς, ενώ παράλληλά αποτελεί φραγμό στην είσοδο παθογόνων μικροοργανισμών και τοξικών ουσιών.
- Ελέγχει την απώλεια ύδατος
- Αποθηκεύει νερό και λίπος
- Είναι υπεύθυνο για το αίσθημα της αφής, του πόνου, της θερμοκρασίας και της πίεσης.
- Έχει θερμορρυθμιστικό και εκκριτικό ρόλο (λειτουργία ιδρωτοποιών αδένων, υποδόριου λίπους κλπ).
- Συμβάλλει στη σύνθεση της βιταμίνης D και στη διατήρηση των επιπέδων ασβεστίου.

Η ποιότητα και τα εξαρτήματά του δέρματος (τρίχες, νύχια) συμβάλλουν τόσο στην αισθητική (εξωτερική εικόνα) του ατόμου, όσο και στην ψυχολογία [2,3].

Από άποψη ανατομίας, το δέρμα μπορεί να διαιρεθεί σε τρεις στιβάδες: την επιδερμίδα, το χόριο ή δερμίδα και το υπόδερμα ή υποδόριο ιστό [4].



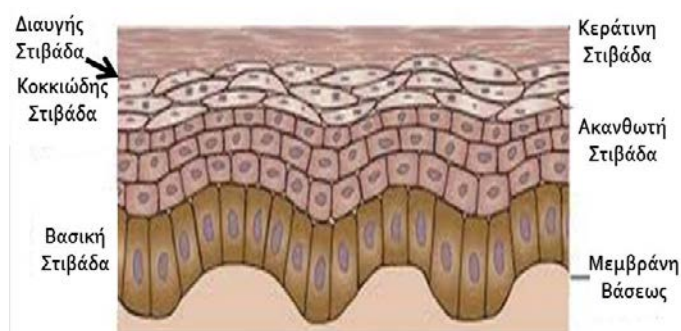
Εικόνα 1. Στιβάδες και εξαρτήματα του δέρματος.

1.1.1. Επιδερμίδα

Η επιδερμίδα είναι η βασική προστατευτική επιθηλιακή στιβάδα που διαθέτει το δέρμα [5]. Έχει μέσο πάχος 1mm αναλόγως με το σημείο του ανθρώπινου σώματος όπου αναπτύσσεται. Επίσης, δεν περιέχει αγγειακό ιστό, διαπερνάται από τα εξαρτήματα του δέρματος και ανανεώνεται πλήρως περίπου κάθε 15-30 ημέρες ανάλογα με την ηλικία και την περιοχή του σώματος [6, 7].

Η επιδερμίδα διακρίνεται σε πέντε υποστιβάδες:

- ❖ Κεράτινη στιβάδα (*stratum corneum*)
- ❖ Διαυγής στιβάδα (*stratum lucidum*)
- ❖ Κοκκιώδης στιβάδα (*stratum granulosum*)
- ❖ Ακανθώδης στιβάδα (*stratum spinosum*)
- ❖ Βασική ή βλαστική στιβάδα (*stratum basale*) (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Η δομή της επιδερμίδας με τις επιμέρους στιβάδες.

Οι στιβάδες αυτές έχουν προκύψει από τη μετακίνηση των κερατινοκυττάρων από τη βασική (εσωτερική) προς την κεράτινη (εξωτερική) στιβάδα του σώματος, όπου και νεκρώνονται [8].

1.1.1.1. Κεράτινη στιβάδα (*Stratum corneum*)

Είναι η στιβάδα αυτή που έρχεται σε άμεση επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον και αποτελείται από 25 σειρές νεκρών πεπλατυσμένων κυττάρων [3]. Τα κύτταρα είναι επίπεδα και γεμάτα με κερατίνη με τη μορφή δεσμίδων από ίνες, ενσωματωμένα σε ένα αδιαφανές νηματοειδές συστατικό. Επίσης, τα κύτταρα αυτά έχουν χάσει τους πυρήνες τους και σχεδόν όλα τα κυττροπλασματικά όργανα και στοιχεία, ακόμη και τα κοκκία κερατινοϋαλίνης. Τα κερατινοποιημένα κύτταρα της επιδερμίδας είναι τοποθετημένα και οργανωμένα σε τακτικές

κάθετες στιβάδες. Τα κύτταρα της στιβάδας αυτής συνεχώς αποβάλλονται από την επιφάνεια του δέρματος. Όταν το δέρμα είναι καλυμμένο και προστατευμένο για μεγάλο χρονικό διάστημα τα κύτταρα που αποβάλλονται παγιδούνται, αλλά το πάχος της κεράτινης στιβάδας παραμένει αμετάβλητο. Έτσι φαίνεται ότι η στιβάδα αυτή αποκτά ένα τελικό πάχος, που δεν επηρεάζεται από εξωτερικές δυνάμεις [1]. Αν και η κεράτινη στιβάδα είναι ανθεκτική στο νερό, δεν είναι αδιάβροχη. Το νερό διεισδύει σιγά-σιγά από τα διάμεσα κενά προς την επιφάνεια και εξατμίζεται στον περιβάλλοντα αέρα. Η ύπαρξη βλάβης στην επιδερμίδα (λύση δέρματος) και ιδιαίτερα στην κεράτινη στιβάδα μπορεί να αυξήσει το ρυθμό της κίνησης-εξάτμισης του νερού [6]. Υπερβολική απώλεια νερού είναι επικίνδυνη και συνδέεται με ξηρότητα του δέρματος [6].

1.1.1.2. Διαυγής στιβάδα (*Stratum lucidum*)

Χαρακτηρίζεται από υαλώδη και διαυγή μορφή. Αποτελείται από τρεις έως πέντε σειρές νεκρών κυττάρων, τα οποία είναι διάφανα, πεπλατυσμένα, πυκνά με κερατίνη.[6] Τα κύτταρα της στιβάδας αυτής περιέχουν μια ουσία που ονομάζεται ελαιοειδίνη. Εμφανίζεται αποκλειστικά στις παλάμες και στα πέλματα. [2]

1.1.1.3 Κοκκιώδης στιβάδα (*Stratum granulosum*)

Αποτελείται από 2-3 σειρές πεπλατυσμένων ρομβοειδών κυττάρων, τα οποία εμφανίζουν οριζόντια διάταξη. Το κυτταρόπλασμα των κυττάρων αυτών περιέχει βασεόφιλα κοκκία, τα κοκκία κερατουαλίνης ή φιλαγγρίνης. Τα κοκκία αυτά περιέχουν προφιλαγγρίνη η οποία μετατρέπεται σε φιλαγγρίνη καθώς τα κύτταρα μεταπίπτουν σταδιακά σε κύτταρα της κεράτινης στιβάδας. Η φιλαγγρίνη έχει την ικανότητα να κρατά συνδεδεμένα τα μόρια των κερατινών στα κατώτερα στρώματα της κεράτινης στιβάδας. Η στιβάδα αυτή δεν υπάρχει στους βλεννογόνους. [4]. Η εξωτερική στιβάδα του χορίου έχει πολλές προεκβολές, που ακολουθούν τις αναδιπλώσεις της επιδερμίδας και είναι περισσότερες σε δέρμα που βρίσκεται υπό συχνή πίεση [1]. Το χόριο διακρίνεται σε θηλώδες και δικτυωτό.

1.1.1.4. Ακανθώδης στιβάδα (*Stratum spinosum*)

Η στιβάδα αυτή, που πήρε το όνομά της από την ακανθώδη εμφάνιση των κυττάρων της [1], αποτελείται από 8-10 σειρές κυττάρων [3]. Στη στιβάδα αυτή τα κύτταρα αρχίζουν και γίνονται πιο πεπλατυσμένα. Τα στενά διάκενα μεταξύ των ακανθωτών κυττάρων

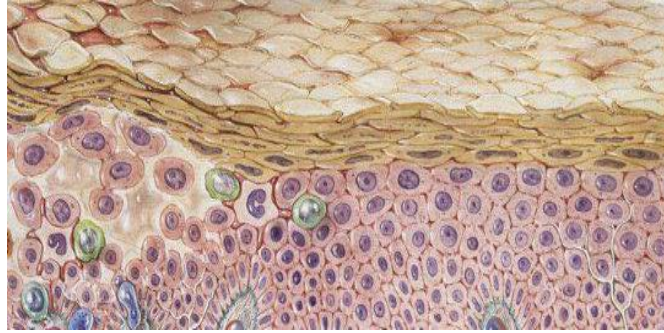
καταλαμβάνονται από τις προεκβολές των μελανοκυττάρων και των κυττάρων του Langerhans [9]. Στα ανώτερα στρώματα εμφανίζονται τα σωμάτια Odland ή πεταλιώδη σωμάτια (lamellar bodies) που περιέχουν λιπίδια, τα οποία εκλύονται στον μεσοκυττάριο χώρο με τη λειτουργία της εξωκυττάρωσης.

1.1.1.5. Βασική ή Βλαστική στιβάδα (*Stratum basale*)

Είναι η στιβάδα που έρχεται σε άμεση επαφή με τη βασική μεμβράνη (η οποία συνδέει το χόριο με την επιδερμίδα) και στην οποία ξεκινά η ανανέωση του δέρματος. Αποτελείται κυρίως από επιμήκη κυλινδρικά κύτταρα, που είναι τα πρόδρομα κύτταρα των κερατινοκυττάρων. Ακόμη, στη στιβάδα αυτή εντοπίζονται και τα μελανοκύτταρα, που αποτελούν το 5-10% του πληθυσμού των βασικών κυττάρων, τα οποία συνθέτουν μελανίνη και συμβάλλουν στη μεταφορά της στα γειτονικά κύτταρα μέσω δενδριτικών αποφυάδων, καθώς επίσης και τα κύτταρα Μέρκελ, που λειτουργούν ως αισθητήριοι υποδοχείς της αφής [10].

1.1.1.6. Τα κύτταρα της επιδερμίδας

Κερατινοκύτταρα: είναι ο τύπος των κυττάρων που κυριαρχούν στην επιδερμίδα και ονομάζονται έτσι επειδή παράγουν μια ινώδη πρωτεΐνη που ονομάζεται κερατίνη, συμβάλλοντας στην ακαμψία του εξωτερικού στρώματος του δέρματος. Χάρη σε αυτή τους την ιδιότητα, μπορούν και προστατεύουν το σώμα από το εξωτερικό περιβάλλον, όπως για παράδειγμα από τη διέγερση, την τριβή και τους παθογόνους εξωτερικούς παράγοντες, ενώ παράλληλα διατηρούν σταθερή την υγρασία. Τα κερατινοκύτταρα παράγονται στη βασική στιβάδα, όπου και εμφανίζουν τη μέγιστη μιτωτική τους δραστηριότητα, από όπου στη συνέχεια μετακινούνται προς τις εξωτερικές στιβάδες, σε κάθε μια από τις οποίες υφίστανται διάφορες μεταβολικές διεργασίες, με διάρκεια περίπου 28 ημέρες, για να καταλήξουν νεκρά, στην κεράτινη στιβάδα.. Τα κερατινοκύτταρα συνδέονται μεταξύ τους με ένα είδος πρωτεϊνών που ονομάζονται δεσμοσώματα και δημιουργούν ένα πυκνό πλέγμα μεταξύ τους. Τα δεσμοσώματα έχουν και στα δύο τους άκρα από ένα κερατινοκύτταρο μεταξύ τους. Οι πρωτεΐνες που συνδέουν τα κερατινοκύτταρα στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας ονομάζονται ημιδεσμοσώματα [2,11,4,12]. (Εικόνα 3)



Εικόνα 3. Κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας.

Μελανινοκύτταρα: Τα μελανινοκύτταρα είναι κύτταρα νευρογενούς προέλευσης και βρίσκονται στην επιδερμίδα. Η κύρια λειτουργία τους είναι η παραγωγή μελανίνης, η οποία εκτός από το γεγονός ότι είναι υπεύθυνη για το χρώμα του δέρματος, ελαχιστοποιεί και την ιστική καταστροφή από την υπεριώδη ακτινοβολία [9], καθώς μπορεί και απορροφά το φως. Τα κύτταρα αυτά περιέχουν εξειδικευμένα οργάνδια, τα μελανοσώματα. Όταν το δέρμα εκτίθεται στο ηλιακό φως, τα μελανοσώματα ενεργοποιούνται και παράγουν μελανίνη. Η πυκνότητα των μελανοσωμάτων εξαρτάται από την περιοχή του σώματος. Για παράδειγμα, συναντώνται σε μεγαλύτερη πυκνότητα στις περιοχές του σώματος που εκτίθενται συχνά στο ηλιακό φως, όπως το πρόσωπο [2,11,4,12]. Οι παραλλαγές στην ποσότητα, το μέγεθος, τον τύπο και την εσωτερική διάταξη των μελανοσωμάτων θεωρούνται υπεύθυνες για τις διαφορές στο χρώμα του δέρματος [13].

Κύτταρα Langerhans: Τα κύτταρα Langerhans είναι επίσης δένδριτικά κύτταρα που βρίσκονται σε όλες τις στιβάδες της επιδερμίδας, αλλά κυρίως στην ακανθωτή στιβάδα. Αποτελούν σημαντικό στοιχείο του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς συμμετέχουν στην ανοσολογική απάντηση έναντι διαφόρων λοιμωδών ερεθισμάτων, με την αναγνώριση και την παρουσίαση των αντιγόνων. Γι αυτό, σε ένα ανθρώπινο σώμα υπό φυσιολογικές συνθήκες τα κύτταρα Langerhans παρατηρούνται σε μικρό αριθμό, εν αντιθέσει με περιπτώσεις φλεγμονών του δέρματος, όπου ο αριθμός, η έκταση και η πολυπλοκότητά τους αυξάνεται [2,11,4,12,9].

Κύτταρα Merkel: Τα κύτταρα Merkel συνδέονται στενά με ελεύθερες νευρικές απολήξεις και εξειδικεύονται στην αντίληψη της αφής. Είναι σπάνια, βρίσκονται στη βασική στιβάδα και ανιχνεύονται δύσκολα στο φυσιολογικό δέρμα. Ο αριθμός του διαφοροποιείται αναλόγως την ανατομική περιοχή. Πιο συγκεκριμένα, ο αριθμός τους είναι μεγαλύτερος στις ράγες των

δακτύλων, στα χείλη και στις ρίζες των τριχών και παρουσιάζονται είτε μόνα τους, είτε σε συμπλέγματα που ονομάζονται δίσκοι του Merkel ή τριχοειδείς δίσκοι [2,11,4,12,9].

1.1.2. Χόριο

Το χόριο αποτελεί τον στηρικτικό ιστό της επιδερμίδας, μέσα στον οποίο βρίσκονται τα εξαρτήματα του δέρματος, τα αιμοφόρα και τα λεμφικά αγγεία καθώς και τα νεύρα. Το πάχος του χορίου ποικίλλει ανάλογα με την ανατομική περιοχή από 0,5 έως 4 mm. Η δομή του είναι πιο πολύπλοκη και αποτελείται από δύο στιβάδες, την ανώτερη ή θηλώδη στιβάδα, που ονομάζεται έτσι από τον τρόπο που διεισδύει υπό μορφή θηλών στην επιδερμίδα, και την κατώτερη ή δικτυωτή στιβάδα, που ονομάζεται έτσι λόγω της δικτυωτής μορφής που παρουσιάζει. Στην ανώτερη δερμίδα οι ίνες κολλαγόνου είναι πιο χαλαρές και αραιές μεταξύ τους, σε αντίθεση με την κατώτερη στιβάδα της δερμίδας, όπου είναι πιο πυκνές. Το χόριο αποτελείται κυρίως από ίνες κολλαγόνου και λιγότερο από ελαστικές ίνες, καθώς και από μία άμορφη κολλώδη ουσία, που αποτελείται κυρίως από ένα μίγμα πολυσακχαριτών και πρωτεϊνών, τη θεμέλιο ουσία. Ο κυτταρικός πληθυσμός του χορίου απαρτίζεται κυρίως από ινοβλάστες, καθώς και από ιστιοκύτταρα (μονοκύτταρα/μακροφάγα) [2,11,14,15].

1.1.2.1. Θηλώδες Χόριο

Το θηλώδες χόριο εντοπίζεται κοντά στην δερμοεπιδερμική συμβολή. Αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό και περιέχει τριχοειδικά αγγεία, λεπτούς νευρικούς κλάδους και νευρικές απολήξεις. Είναι αραιοχρωματικό και περιέχει περισσότερη θεμέλια ουσία και λιγότερο ελαστίνη και κολλαγόνο σε σχέση με το δικτυωτό.

1.1.2.2. Δικτυωτό Χόριο

Το δικτυωτό χόριο αποτελεί το μεγαλύτερο τμήμα του χορίου. Αποτελείται από πυκνό συνδετικό ιστό και ειδικότερα από εμφανείς πυκνές δεσμίδες κολλαγόνων ινών με παρεμβλλόμενες επιμήκεις ελαστικές ίνες, που συνήθως έχουν παράλληλη πορεία προς την επιφάνεια του δέρματος, καθώς και από εξαρτήματα του δέρματος όπως οι μονήρεις σμηγματογόνοι, οι εκκρινείς και οι αποκρινείς ιδρωτοποιοί αδένες με τους πόρους τους [4].

1.1.3. Υπόδερμα ή Υποδόριος Ιστός

Είναι το βαθύτερο στρώμα του δέρματος, αμέσως κάτω από το χόριο. Ο υποδόριος ιστός αποτελείται από χαλαρό συνδετικό ιστό που στερεώνει χαλαρά το δέρμα πάνω στα υποκείμενα όργανα, επιτρέποντάς του να διολισθαίνει πάνω στις υποκείμενες δομές. Το πάχος του κυμαίνεται από 2 έως 30mm, ανάλογα το φύλο, την ηλικία και την περιοχή του σώματος. Για παράδειγμα, είναι παχύτερος στους γλουτούς, στις παλάμες των χεριών και στα πέλματα των ποδιών. Με την πάροδο του χρόνου, ο υποδόριος ιστός ατροφεί ακολουθώντας την γήρανση του σώματος. Αποτελείται κυρίως από λιποκύτταρα και ινώδη διαφραγμάτια και περιέχει τα αγγεία και τα νεύρα, που διέρχονται προς το υπερκείμενο χόριο και σε ορισμένες περιοχές τα κατώτερα τμήματα εξαρτημάτων του δέρματος. Στον υποδόριο ιστό (στα λιπώδη κύτταρα κυρίως) οφείλεται, ως επί το πλείστον, η διατήρηση της ενέργειας και της θερμότητας του σώματος, αφού μονώνει το σώμα από τις χαμηλές θερμοκρασίες. Επιπλέον, προστατεύει τον οργανισμό από τραυματισμούς με την απορρόφηση των κραδασμών, και αποθηκεύει θρεπτικά συστατικά [2].

1.1.3.1. Αγγείωση

Η κυριότερη παροχή αίματος στο δέρμα εντοπίζεται στη δερμίδα και προέρχεται από τα μεγαλύτερα αγγεία του υποδόριου ιστού. Αναγνωρίζονται δύο χαρακτηριστικά πλέγματα: ένα βαθύ αγγειακό πλέγμα στην κατώτερη δικτυωτή δερμίδα, κοντά στο όριο με τον υποδόριο ιστό και ένα επιφανειακό αγγειακό πλέγμα στο άνω δικτυωτό χόριο, κοντά στη συμβολή με το θηλώδες. Αγκύλες μικρών αγγείων από το επιφανειακό αγγειακό πλέγμα κατευθύνονται προς την θηλώδη δερμίδα, με μικρά τριχοειδικά αγγεία τοποθετημένα κοντά στη βασική μεμβράνη της επιδερμίδας. Τα αγγεία δεν διαπερνούν την επιδερμίδα. Το χόριο περιέχει πολλές αρτηριοφλεβώδεις αναστομώσεις, που περιλαμβάνουν πολύπλοκες εξειδικευμένες δομές, τα σπειροειδή σωμάτια (glomus bodies), τα οποία βρίσκονται κυρίως στα άκρα των δακτύλων. Η μεταβλητότητα της ροής του αίματος στη δερμίδα είναι σημαντική, όσο αφορά τη λειτουργία του δέρματος ως θερμορυθμιστικού οργάνου [4]. Τα εξαρτήματα του δέρματος αγγειώνονται από κλάδους των αγγείων, τα οποία συνδέουν τα βαθύτερα με τα επιφανειακότερα αγγειακά πλέγματα [4].

1.1.3.2. Νεύρωση

Το νευρικό δίκτυο του δέρματος βρίσκεται στη δερμίδα και αποτελείται από ένα πλούσιο δίκτυο, προερχόμενο από το νευρικό σύστημα, όπου βρίσκονται οι υποδοχείς της δερματικής

αίσθησης. Η δερματική αίσθηση οφείλεται σε ένα αριθμό εξειδικευμένων και μη νευρικών απολήξεων. Οι ελεύθερες νευρικές απολήξεις είναι άφθονες και αποτελούν τους υποδοχείς του πόνου και της θερμότητας. Τα σωμάτια Pacini αποτελούνται από νευρικές απολήξεις που περιβάλλονται από κάψα, έχουν μια χαρακτηριστική δομή και αποτελούν υποδοχείς της πίεσης και, πιθανόν της δόνησης. Είναι τοποθετημένες συνήθως βαθιά στη δερμίδα ή στο υποδόριο λίπος των παλαμών και των πελμάτων. Τα σωμάτια Meissner είναι νευρικές απολήξεις με χαρακτηριστική δομή, που βρίσκονται στη θηλώδη δερμίδα. Είναι πιο άφθονα στα πόδια και στα χέρια και αποτελούν υποδοχείς της αφής. Τα κύτταρα Merkel και οι νευρικές τους συνδέσεις αποτελούν υποδοχείς, οι οποίοι μετατρέπουν το αισθητικό ερέθισμα της αφής [4].

1.1.4. Εξαρτήματα του δέρματος

Στα εξαρτήματα του δέρματος συμπεριλαμβάνονται τα νύχια, οι τρίχες και οι αδένες. Για την ακρίβεια πρόκειται για εξαρτήματα της επιδερμίδας, επειδή είναι επιθηλιακές δομές και προέρχονται εμβρυολογικά από την επιδερμίδα, ωστόσο βρίσκονται στο χόριο (εκτός από τα νύχια) ή ακόμη και μέσα στον υποδόριο ιστό σε ορισμένες ανατομικές περιοχές, όπως στο πρόσωπο [4].

1.1.4.2. Τρίχες

Οι τρίχες είναι επιμήκεις, κερατοποιημένες δομές που προβάλλουν στην επιφάνεια του δέρματος. Απαντώνται σε όλη την επιφάνεια του δέρματος εκτός από τα πέλματα, τις παλάμες, την πόσθη και την ονυχοφόρο φάλαγγα των δακτύλων [4].

1.1.4.2. Σμηγματογόνοι αδένες

Οι σμηγματογόνοι αδένες βρίσκονται στο χόριο του μεγαλύτερου μέρους του σώματος, εκτός από τις παλάμες και τα πέλματα. Αποτελούν μέρος της τριχοσμηγματογόνου μονάδας. Σε κάποιες ανατομικές περιοχές, υπάρχουν «ελεύθεροι» σμηγματογόνοι αδένες που απελευθερώνουν κατευθείαν το έκκριμα τους στην επιφάνεια του δέρματος. Τα επιθηλιακά κύτταρα των σμηγματογόνων αδένων πολλαπλασιάζονται, ενώ παράλληλα υφίστανται λιπώδη εκφύλιση. Στο τέλος, ακολουθεί η διάρρηξή τους από την οποία προκύπτει το σμήγμα, δηλαδή το έκκριμα των σμηγματογόνων αδένων, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη λίπανση των τριχών, ώστε να διατηρείται η ελαστικότητα τους, τη λίπανση του δέρματος για να προστατεύεται από την τριβή, καθώς και την αδιαβροχοποίησή του [4].

1.1.4.3. Ιδρωτοποιοί αδένες

Το δέρμα διαθέτει δύο τύπους ιδρωτοποιών αδένων, τους εκκρινείς και τους αποκρινείς. Ο αριθμός τους υπολογίζεται σε πάνω από 2 εκατομμύρια. Υπάρχουν σχεδόν σε όλη την επιφάνεια του δέρματος και κυρίως στις μασχάλες, στις παλάμες, στα πέλματα και στο μέτωπο. Η νεύρωση τους γίνεται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα και συγκεκριμένα από νευρικές ίνες. Η φυσιολογική λειτουργία των ιδρωτοποιών αδένων έγκειται στην παραγωγή του ιδρώτα, που ελαττώνει τη θερμοκρασία του σώματος μέσω της εξάτμισης [2,4].

1.1.4.4 Νύχια

Είναι πεπλατυσμένες, κερατινοποιημένες και ελαφρώς κυρτές πλάκες, που καλύπτουν το μεγαλύτερο τμήμα της ραχιαίας επιφάνειας, της τελικής φάλαγγας των δακτύλων, των χεριών και των ποδιών. Τα νύχια είναι υπεύθυνα για την προστασία των ευαίσθητων και πολύ σημαντικών άκρων των δακτύλων, καθώς και για την αίσθηση της αφής [4].

1.2. Ιδιότητες Δέρματος

Το δέρμα περιβάλλει εξωτερικά το ανθρώπινο σώμα, δημιουργώντας έναν φραγμό [16] ενάντια στην απώλεια νερού και ηλεκτρολυτών του σώματος, στην είσοδο παθογόνων μικροοργανισμών, στη διείσδυση τοξικών ουσιών καθώς και στην απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας [2,18,19]. Η κύρια στιβάδα του δέρματος που συμβάλλει στην προστασία του οργανισμού είναι η κεράτινη στιβάδα και η λύση της μπορεί να μειώσει επικίνδυνα αυτή την προστασία, καθώς αυξάνεται η διαπερατότητα της επιδερμίδας σε νερό και άλλες ουσίες [20]. Τα κερατινοκύτταρα, τα μελανοκύτταρα με την παραγόμενη μελανίνη για την ακτινοβολία, το χαμηλό pH του δέρματος εξαιτίας του γαλακτικού οξέος στους ιδρωτοποιούς αδένες, η ύπαρξη αντιβακτηριακής και αντιμικροβιακής χλωρίδας [21] ενάντια στους εξωγενείς παράγοντες, το σμήγμα και το υποδόριο λίπος, [22] που συμβάλλει στη διαδικασία της θερμομόνωσης αποτελούν σημαντικά «όπλα» στη γραμμή υπεράσπισης του φραγμού του δέρματος.

Ως βασικοί δείκτες για την αξιολόγηση της λειτουργίας και της κατάστασης του δέρματος ως φραγμός, έχουν καθιερωθεί η μέτρηση της άδηλης απώλειας νερού και η ενυδάτωση της επιδερμίδας [23,24,25,26].

❖ Άδηλη Απώλεια Ύδατος

Ως άδηλη απώλεια ύδατος ορίζεται η διαδερμική απώλεια ύδατος (*Transepidermal Water Loss, TEWL*) και περιγράφει τη συνολική ποσότητα νερού που εξατμίζεται από το δέρμα, από τις κατώτερες προς τις ανώτερες στιβάδες (g νερού/m² ανά ώρα), απώλεια που συμβαίνει συνεχώς με παθητική διάχυση μέσω της επιδερμίδας (Εργαστηριακές Σημειώσεις «Έλεγχου και Αξιολόγησης Καλλυντικών Προϊόντων»). Με αντίστοιχο τρόπο πραγματοποιείται ταυτόχρονα και αναπλήρωση του νερού που εξατμίζεται από τα ενδότερα στρώματα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση νερού, καθώς και από τους παρακείμενους ιστούς και τους ιδρωτοποιούς αδένες, προς την εξωτερική επιφάνεια που η συγκέντρωση του νερού είναι μικρότερη [27]. Συνεπώς η άδηλη απώλεια νερού αφορά στη διάχυση του νερού μέσω της κεράτινης στιβάδας υπό σταθερή ροή εξάτμισης των υδρατμών προς το περιβάλλον βάσει του πρώτου νόμου του Fick:

$$TEWL = 1A \Delta m \Delta t = -D \Delta c \Delta z,$$

όπου:

A= Επιφάνεια,

Δm = διαφορά της μάζας νερού που αντιστοιχεί στα δύο σημεία μέτρησης,

Δt = χρόνος,

D= σταθερά διάχυσης του νερού,

Δc = διαφορά τάσης ατμών του νερού στα δύο σημεία μέτρησης,

Δz = απόσταση μεταξύ των δύο σημείων μέτρησης [28].

Η αύξηση της άδηλης απώλειας νερού είναι επιζήμια για την ακεραιότητα του δερματικού φραγμού. Συνεπώς, η άδηλη απώλεια νερού αποτελεί δείκτη για τις μακροσκοπικές αλλαγές στην κεράτινη στιβάδα ως φραγμός [29].

Η μέτρηση της άδηλης απώλειας νερού στο δέρμα μπορεί να πραγματοποιηθεί με μηχανήματα είτε «ανοικτού» είτε «κλειστού» τύπου [30]. Και τα δύο αυτά είδη μηχανημάτων έχουν κοινή αρχή λειτουργίας. Διαθέτουν ειδικά σχεδιασμένη κεφαλή, η οποία τοποθετείται στην εξεταζόμενη επιφάνεια του δέρματος. Η κεφαλή φέρει θάλαμο που περιέχει δύο ζεύγη, το κάθε ένα από τα οποία αποτελείται από μια θερμική αντίσταση και έναν αισθητήρα υγρασίας. Η συσκευή εφαρμόζεται στην εξεταζόμενη περιοχή κατά τέτοιο τρόπο, ώστε τα ζεύγη να απέχουν διαφορετικές αποστάσεις από την επιφάνεια του δέρματος. Μετρώνται η σχετική υγρασία και η θερμοκρασία στα δύο αυτά σημεία και έτσι υπολογίζεται η διαφορά της τάσης των ατμών μεταξύ των δύο σημείων. Από τη διαφορά της τάσης των ατμών μεταξύ των δύο σημείων, μπορεί να προσδιορισθεί ο ρυθμός TEWL [31]. Τα μηχανήματα «ανοικτού τύπου» βρίσκονται σε άμεση επαφή με το περιβάλλον και επομένως επηρεάζονται εύκολα

από τη θερμοκρασία και τη ροή του αέρα στο χώρο που γίνεται η μέτρηση. Αντίθετα, τα μηχανήματα «κλειστού τύπου» δεν επηρεάζονται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος [29]. Ο υπολογισμός του ρυθμού TEWL επηρεάζεται από την ηλικία, το φύλο, τη θερμοκρασία του εξεταζόμενου σημείου και του περιβάλλοντος χώρου, την κατάσταση των ιδρωτοποιών αδένων, τις πιθανές βλάβες που φέρει το δέρμα, τον κερκαδικό ρυθμό, τη θερμοκρασία του στελέχους του οργάνου, τις πηγές μέτρησης θερμότητας και φωτός και τη διάρκεια της μέτρησης [31]

❖ Ελαστικότητα

Οι μηχανικές ιδιότητες του δέρματος έχουν μεγάλη σημασία για τον κύριο ρόλο που διαδραματίζει στην προστατευτική λειτουργία των υποκείμενων ιστών.

Στη δερματολογία, η σοβαρότητα πολλών δερματικών παθήσεων (π.χ. σκληροδερμία, Ehlers-Danlos, χηλοειδή), οι οποίες προκαλούν αλλοιώσεις στις μηχανικές ιδιότητες του δέρματος, μπορεί να εκτιμηθεί με τη μέτρηση της ελαστικότητας του συνδετικού ιστού.

Ως ελαστικότητα ορίζεται γενικά η ικανότητα ενός υλικού να αλλάζει μήκος, όγκο ή σχήμα όταν εφαρμόζεται σε αυτό κάποια δύναμη και να επανέρχεται στην αρχική του μορφή όταν παύει η εφαρμογή της δύναμης [32]. Συγκεκριμένα η ελαστικότητα στο δέρμα, περιγράφει την ικανότητά του να ανακτά το σχήμα του έπειτα από εφαρμογή τάσης ή παραμόρφωσης [33]. Αντίστοιχα, η ιξωδοελαστικότητα περιγράφει την περιεκτικότητα του δέρματος σε νερό σε συνδυασμό με την αρχή του ιξώδους, δηλαδή την εσωτερική αντίσταση στη ροή ενός υγρού όταν εφαρμόζεται σε αυτό κάποια δύναμη [32]. Σε αυτήν οφείλεται άλλωστε και η προστασία του δέρματος έναντι σε τραυματισμούς και καταπονήσεις [33], [34].

Η μέτρηση της ελαστικότητας του δέρματος στηρίζεται στην αρχή της υποπίεσης (20-500 mbar) και αναρρόφησης. Στη συνέχεια, ακολουθεί φωτομετρική μέτρηση και προσρόφηση του δέρματος στο στόμιο ειδικής συσκευής μέτρησης και στο τέλος επανέρχεται στην αρχική του κατάσταση [32]. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της ελαστικότητας που μετράται, τόσο μικρότερος είναι ο χρόνος επαναφοράς του δέρματος στην αρχική του κατάσταση [31].

Μια από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες συσκευές μέτρησης της ελαστικότητας του δέρματος είναι η συσκευή τύπου «Cutometer».

❖ Ενυδάτωση δέρματος

Η ενυδάτωση της κεράτινης στιβάδας του δέρματος οφείλεται σε πολλούς φυσικούς παράγοντες που απαντώνται σε αυτό όπως στα αμινοξέα, το πυρρολίδινο-καρβοξυλικό οξύ, την ουρία, τα παράγωγα του γαλακτικού οξέος, την αμμωνία, το ουρικό οξύ, τα ανόργανα ιόντα, τα οργανικά οξέα, τα σάκχαρα κ.α. χάρη στις υγροσκοπικές τους ιδιότητες [31]. Η ενυδάτωση επηρεάζει με τη σειρά της την ελαστικότητα και τη διαπερατότητα της κερατίνης στιβάδας [31].

Ο προσδιορισμός της ενυδάτωσης επιτυγχάνεται τόσο με άμεσους όσο και με έμμεσους τρόπους. Στους άμεσους συγκαταλέγονται η αγωγιμότητα και η χωρητικότητα της κεράτινης στιβάδας (με προσδιορισμό των ηλεκτρικών της ιδιοτήτων) και στους έμμεσους η τριβή και η χρήση ταινιών συλλογής κερατινοκυττάρων (strippings) [31]. Αξίζει να αναφερθεί ότι ο προσδιορισμός της ενυδάτωσης μέσω της χωρητικότητας στηρίζεται στη διαφορά της διηλεκτρικής σταθεράς ανάμεσα στο νερό ($\epsilon_{\text{νερού}}=70$) και σε αυτή των υπόλοιπων ουσιών της κεράτινης στιβάδας ($\epsilon_{\text{υπολοίπων ουσιών}} < 7$) [31]. Αυτός πραγματοποιείται με τη χρήση συσκευής με πυκνωτή από δύο αντίθετα φορτισμένες πλάκες μεταξύ των οποίων δημιουργείται ηλεκτρικό πεδίο. Αύξηση της χωρητικότητας προκαλείται με την εισαγωγή υλικού υψηλής διηλεκτρικής σταθεράς. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της χωρητικότητας επηρεάζονται από τη λειτουργία των ιδρωτοποιών αδένων, την τραχύτητα του δέρματος, τη θερμοκρασία και τη διαφορά πρόσληψης - αποβολής νερού της περιοχής που μετράται [31]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΗΛΙΑΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΚΑΙ ΔΕΡΜΑ

2.1. Ακτινοβολίες

Η ηλιακή ακτινοβολία είναι υπεύθυνη για τη θερμότητα και το φως που είναι απαραίτητο για τη ζωή στον πλανήτη. Εκπέμπει υπεριώδη ακτινοβολία, η οποία έχει πολλαπλές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό [35]. Πρόκειται για ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που εκπέμπεται σε διάφορα μήκη κύματος, δημιουργώντας το ηλιακό φάσμα. Ο χαρακτηρισμός και η δράση κάθε ακτινοβολίας εξαρτάται από το μήκος κύματος, δηλαδή την ενέργεια που εκπέμπει. Πιο συγκεκριμένα:

- i) Υπεριώδης ακτινοβολία, η οποία κυμαίνεται από 100 έως 400 nm.
- ii) Ορατό φάσμα το οποίο εκτείνεται από 400 έως 760 nm
- iii) Υπέρυθη ακτινοβολία η οποία έχει έκταση από 760 έως 3000 nm.

2.1.1. Υπεριώδης ακτινοβολία και παρενέργειες

Αν και η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, δεν ανήκει στις iontίζουσες ακτινοβολίες, καθώς τα φωτόνια της δεν μπορούν να ionίσουν τα άτομα, ενώ τα μεγαλύτερα μήκη κύματος της UV μπορούν να προκαλέσουν χημικές αντιδράσεις. Έτσι, οι βιολογικές δράσεις της UV είναι πολύ περισσότερες από αυτές της απλής θερμότητας. Ακόμα, καθώς το μήκος κύματος αυξάνεται σταθερά από τη UVB στη UVA, στο ορατό και στη συνέχεια στο υπέρυθρο, η ενέργεια κάθε φωτονίου μειώνεται, ενώ η ικανότητα διείσδυσης στο βιολογικό ιστό αυξάνει [36].

Η ηλιακή έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία είναι ένα σημαντικό αίτιο πολλών ασθενειών του δέρματος, όπως η φλεγμονή, η εκφυλιστική γήρανση και ο καρκίνος. Οι άνθρωποι ανέκαθεν εκτίθονταν σε υπεριώδη ακτινοβολία τόσο λόγω επαγγελματικής όσο και λόγω ψυχαγωγικής έκθεσης στο ηλιακό φως. Η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία ποικίλλει γεωγραφικά, ανάλογα με την ένταση του ηλιακού φωτός σε μια συγκεκριμένη θέση στη Γη. Δεδομένου ότι η υπεριώδης ακτινοβολία μπορεί να ανακλαστεί, να διασκορπιστεί και να απορροφηθεί από ατμοσφαιρικά σωματίδια, η δόση UV του περιβάλλοντος ποικίλλει ανάλογα με τα επίπεδα της ατμόσφαιρας που πρέπει να διαπεράσει, καθιστώντας τις δόσεις UV υψηλότερες πλησιέστερα στον Ισημερινό, σε συνθήκες ελάχιστης κάλυψης από νέφη ή σωματίδια. Η δόση UV που λαμβάνουμε εξαρτάται όχι μόνο από την ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας, αλλά και από το χρόνο που εκτιθέμεθα σε εξωτερικούς χώρους και από τη

χρήση ή όχι προστατευτικών ρούχων. Δεδομένου ότι οι θέσεις των ισημερινών τείνουν να είναι ζεστές και ευνοϊκές για ψυχαγωγικές ή επαγγελματικές υπαίθριες δραστηριότητες, οι άνθρωποι που ζουν σε αυτές τις τοποθεσίες συνήθως φορούν λιγότερα ρούχα, έχουν μεγαλύτερη επαφή με το ηλιακό φως ενώ συνήθως λαμβάνουν και πολύ υψηλότερες δόσεις UV περιβάλλοντος από ό,τι τα άτομα που ζουν σε εύκρατα κλίματα. Δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι ο κίνδυνος καρκίνου του δέρματος παρουσιάζει γεωγραφική εξάρτηση, ιδιαίτερα μεταξύ ευαίσθητων στην ηλιακή ακτινοβολία ανθρώπων. Συνεπώς, αποδεικνύεται ότι η έντονη ή εκτεταμένη έκθεση μπορεί να προκαλέσει έγκαυμα στο «ευαίσθητο» δέρμα, ενώ σε περίπτωση παρατεταμένης έκθεσης είναι δυνατόν να προκληθεί έως και βλάβη στις υποκείμενες δομές του χορίου και να οδηγήσει σε πρόωρη φωτογήρανση. Κατ' επέκταση, η χρόνια, επαναλαμβανόμενη έκθεση στον ήλιο, ήδη από την παιδική ηλικία, αποδεικνύεται επιδημιολογικώς ότι αποτελεί την κύρια αιτία πρόκλησης καρκίνου του δέρματος [37].

Η υπεριώδης ακτινοβολία ασκεί μια ποικιλία επιδράσεων στα κύτταρα, τους ιστούς και τα μόρια. Ειδικότερα, η υπεριώδης ακτινοβολία UVB έχει πειραματικά αποδειχθεί ότι μπορεί να προκαλέσει άμεση βλάβη στο DNA μέσω διμερών κυκλοβουτανίου (διμερή θυμίνης ή κυτοσίνης) και φωτοπροϊόντων που επάγουν μεταλλάξεις στα κύτταρα της επιδερμίδας, οδηγώντας στην εμφάνιση καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, επιδρά έμμεσα στα μακρομόρια, επάγοντας την παραγωγή ελευθέρων ριζών και μειώνοντας τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών στο δέρμα, ενώ παράλληλα συμβάλλει στη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και της λειτουργικής σύνθεσης του DNA στο δέρμα [38]. Τέλος, καταστέλλει την ανοσολογική απόκριση, καθώς υπάρχουν ενδείξεις ότι οι φωτοχημικές βλάβες του DNA ενδεχομένως να ενεργοποιούν ανοσοκατασταλτικούς μηχανισμούς και να επάγουν μια κατάσταση ανοσιακής αντοχής σε διάφορα αντιγονικά ερεθίσματα και νεοπλασματικά κύτταρα [39].

Εν κατακλείδι, η UVB, αποτελώντας το 0,1% της ηλιακής ακτινοβολίας, διαπερνά την κεράτινη στιβάδα και φθάνει μέχρι και την επιδερμίδα. Μπορεί να προκαλέσει ερυθρότητα, έγκαυμα, καταστροφή του DNA, έμμεση μελάγχρωση, πρόωρη γήρανση και καρκίνο του δέρματος. Επίσης, είναι υπεύθυνη για ανοσοκαταστολή, φωτοδυναμικές αντιδράσεις, φωτοδερματίτιδες και υπεροξείδωση των λιπαρών οξέων.

Αντίθετα με τη UVB, η UVA αποτελεί το 4,9% της ηλιακής ακτινοβολίας και διεισδύει βαθύτερα στην επιδερμίδα και το χόριο του δέρματος, ενώ είναι 1000 φορές πιο αποτελεσματική στην ενεργοποίηση της μελανινογένεσης [40]. Συγκεκριμένα, προκαλεί πρόωρη γήρανση με καταστροφή του κολλαγόνου, απώλεια ελαστικότητας, άμεση μελάγχρωση και ανοσοκαταστολή. Ακόμα, προκαλεί νέκρωση των ενδοθηλιακών κυττάρων, καταστρέφοντας έτσι τα αιμοφόρα αγγεία του δέρματος και επάγει την παραγωγή ενεργών

μορφών οξυγόνου (ROS) [40]. Τέλος, είναι υπεύθυνη για φωτοκαρκινογένεση και εμφάνιση φωτοδερματίτιδων.

Σε γενικές γραμμές, οι βλάβες του δέρματος που προκαλούνται από την υπεριώδη ακτινοβολία εξαρτώνται από ποικίλες παραμέτρους, όπως το μήκος κύματος, η δόση και η συχνότητα της ακτινοβολήσης, καθώς και τα χαρακτηριστικά του ίδιου του ιστού [38]. Ένα τυπικό παράδειγμα είναι οι διαφορές στο αποτέλεσμα μεταξύ της οξείας και της χρόνιας έκθεσης. Στην πρώτη περίπτωση εμφανίζεται ερύθημα, θερμότητα, οίδημα, άλγος και κνησμός που ακολουθείται από πάχυνση του δέρματος, ενώ στη δεύτερη μπορεί να προκληθεί γήρανση του δέρματος και καρκινογένεση. Τέλος, όταν το ερύθημα επάγεται από την ηλιακή ακτινοβολία, η αντίδραση στο φως χαρακτηρίζεται ως «ηλιακό έγκαυμα» [41].

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η υπεριώδης ακτινοβολία έχει πολλές επιπτώσεις στις ιδιότητες του δέρματος, με ορισμένες συνέπειες να εμφανίζονται άμεσα ενώ άλλες με καθυστέρηση. Μια από τις πιο εμφανείς οξείες επιδράσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας στο δέρμα είναι η εμφάνιση της φλεγμονής. Η UVB επάγει την παραγωγή κυτοκινών, αγγειοδραστικών και νευροδραστικών μεσολαβητών στο δέρμα, που μαζί οδηγούν σε μια φλεγμονώδη απόκριση. Εάν η δόση της υπεριώδους ακτινοβολίας υπερβαίνει ένα συγκεκριμένο ποσοστό τα κερατινοκύτταρα οδηγούνται σε απόπτωση και πεθαίνουν. Τέτοια αποπτωτικά κερατινοκύτταρα μπορούν να ταυτοποιηθούν από τους πυκνωτικούς πυρήνες τους.

Η UV επίσης οδηγεί σε αύξηση του επιδερμικού πάχους, που ονομάζεται υπερκεράτωση. Με την πρόκληση κυτταρικού τραυματισμού, η υπεριώδης ακτινοβολία ενεργοποιεί την απόκριση καταστροφής των κερατινοκυττάρων. Τα «σήματα βλάβης», όπως η ενεργοποίηση του p53, μεταβάλλουν βαθιά τη φυσιολογία των κερατινοκυττάρων, προκαλούν τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου, ενεργοποιούν την επισκευή του DNA και προκαλούν απόπτωση, εάν η βλάβη είναι αρκετά μεγάλη. Ωστόσο, αρκετές ώρες μετά την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία τα «σήματα απόκρισης βλαβών» μειώνονται και τα επιδερμικά κερατινοκύτταρα πολλαπλασιάζονται ταχέως, με τη μεσολάβηση μιας ποικιλίας επιδερμικών αυξητικών παραγόντων. Συνήθως, η μέγιστη αύξηση στον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων παρατηρείται 48 ώρες μετά την ακτινοβολήση [40]. Η αυξημένη διαίρεση κερατινοκυττάρων μετά την έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, οδηγεί σε συσσώρευση επιδερμικών κερατινοκυττάρων που αυξάνει το επιδερμικό πάχος. Η επιδερμική υπερπλασία προστατεύει καλύτερα το δέρμα από τη διείσδυση της UV. Σε συνδυασμό με την επιδερμική υπερκεράτωση ενεργοποιείται και η σταδιακή παραγωγή μελανίνης. Το UV ρυθμίζει την παραγωγή και την επιδερμική συσσώρευση της μελανίνης στο δέρμα. Αυτή η σημαντική

φυσιολογική απόκριση προστατεύει το δέρμα από επακόλουθη βλάβη από την υπεριώδη ακτινοβολία ενώ τα ελαττώματα σε αυτήν την οδό συνδέονται με την ευαισθησία στην εμφάνιση καρκίνου [42].

2.1.2. Μηχανισμοί προστασίας από τη UV

Ο ανθρώπινος οργανισμός έχει αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς άμυνας και προστασίας έναντι των αρνητικών επιδράσεων της ηλιακής ακτινοβολίας. Οι κυριότεροι από αυτούς είναι:

- **Πάχυνση Της Επιδερμίδας** (υπερκεράτωση): πρόκειται για πολλαπλασιασμό των κυττάρων της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας, όταν ο οργανισμός δέχεται υψηλή δόση ηλιακής ακτινοβολίας. Τα δερματικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται με υψηλότερους ρυθμούς, δημιουργώντας ανομοιόμορφα και ασύνδετα μεταξύ τους κύτταρα. Η κεράτινη στιβάδα μπορεί να υποστεί πάχυνση έως και 10 φορές του φυσιολογικού, η οποία διαρκεί 2-3 εβδομάδες μετά την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται η προστασία των βαθύτερων επιδερμικών κυττάρων.
- **Ηλιακό Ερύθημα Και Έγκαυμα**: αποτελεί την πρώτη γραμμή προστασίας του δέρματος στην περίπτωση έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία. Ουσιαστικά πρόκειται για μεγάλη συγκέντρωση ερυθρών αιμοσφαιρίων, με αποτέλεσμα να μειώνεται η ένταση της υπεριώδους ακτινοβολίας, προστατεύοντας κατά αυτό τον τρόπο βραχυπρόθεσμα το δέρμα μέχρι να ενεργοποιηθούν οι υπόλοιποι φυσιολογικοί μηχανισμοί του ανθρώπινου οργανισμού.
- **Μελανογένεση**: η μελανίνη είναι η χρωστική του δέρματος προκειμένου να προστατευτεί ο ανθρώπινος οργανισμός από την υπεριώδη ακτινοβολία. Κατά την έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία τα μελανοκύτταρα παράγουν αυξημένα ποσά μελανίνης με συνέπεια το μαύρισμα του δέρματος. Η μελανογένεση είναι ο πιο βασικός μηχανισμός προστασίας του ανθρώπινου οργανισμού έναντι της υπεριώδους ακτινοβολίας. Η UVA προκαλεί άμεσο αλλά πρόσκαιρο μαύρισμα του δέρματος. Η UVB ακτινοβολία προκαλεί έμμεσο και σταθερό μαύρισμα ως αποτέλεσμα βιοχημικών αντιδράσεων [43].
- **Ιδρώτας**: ο ιδρώτας προσφέρει αντηλιακή προστασία καθώς περιέχει ουροκανικό οξύ που έχει ασθενή προστατευτική δράση έναντι της ηλιακής ακτινοβολίας. Κατά την έκθεση στον ήλιο η συγκέντρωση του ιδρώτα αυξάνεται κατά 10 φορές, αυξάνοντας κατά συνέπεια και την προστατευτική του δράση. [44]
- **Ενεργοποίηση Ενζύμων**: η επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας παράγει ελεύθερες ρίζες οξυγόνου οι οποίες προστατεύουν τον ανθρώπινο οργανισμό ενεργοποιώντας ενζυμικά συστήματα που αποτρέπουν την καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών και των πρωτεϊνών της επιδερμίδας και του χορίου.

- **Αυτοεπανόρθωση:** ο ανθρώπινος οργανισμός διαθέτει και διάφορους μηχανισμούς αυτοεπανόρθωσης οι οποίοι αποκαθιστούν αυτόματα βλάβες που μπορεί να έχουν προκληθεί από την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία.

2.1.3. Ευεργετικές Επιδράσεις της UV

Αξίζει να σημειωθεί, βέβαια, ότι η υπεριώδης ακτινοβολία, σε ορισμένη ποσότητα, μπορεί να δράσει ευεργετικά στον ανθρώπινο οργανισμό. Καταρχάς, είναι απαραίτητη για την πραγματοποίηση της φωτοσύνθεσης των φυτών [45] και κατά συνέπεια της παραγωγής οξυγόνου, που είναι βασικό στοιχείο της ζωής στον πλανήτη. Ακόμη, η υπεριώδης ακτινοβολία προσφέρει σωματική αλλά και ψυχική σταθερότητα στον ανθρώπινο οργανισμό, καθώς μελέτες έχουν αποδείξει πως η ηλιακή ακτινοβολία συνδέεται άμεσα με την ευεξία και την καλή ψυχολογική κατάσταση. Επίσης, εξίσου θετική είναι η επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας σε διάφορες παθήσεις όπως η ψωρίαση και η ακμή [46]. Η παραγωγή μελανίνης, το συνεπακόλουθο φυσικό μαύρισμα και η συνεπαγόμενη προστασία από τα ηλιακά εγκαύματα είναι άλλη μία σημαντική ευεργετική επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας [47]. Έχει ακόμη αναφερθεί ότι η υπεριώδης ακτινοβολία σε συνδυασμό με τις απολυμαντικές ιδιότητες του θαλασσινού νερού συμβάλουν στην αντιμετώπιση της σμηγματοειδούς δερματίτιδας [48]. Τέλος, πρέπει να αναφερθεί η συμβολή της UV στη σύνθεση της βιταμίνης D. Η βιταμίνη D παίζει βασικό ρόλο στην υγεία των οστών. Η σύνθεσή της στο ανθρώπινο δέρμα συμβαίνει έπειτα από έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία. Η βιταμίνη D είναι επίσης απαραίτητο στοιχείο για το μεταβολισμό και την ομοιοστάση του μυοσκελετικού συστήματος, ενώ παράλληλα προστατεύει τον ανθρώπινο οργανισμό από τα αυτοάνοσα καρκινώματα. Πιο συγκεκριμένα, η παραγωγή της βιταμίνης D ενεργοποιεί την απορρόφηση ασβεστίου, διατηρώντας τα επίπεδα ασβεστίου και φωσφόρου στο αίμα σε ικανοποιητικά επίπεδα. Τα υψηλά επίπεδα ασβεστίου και φωσφόρου με τη σειρά τους διατηρούν σε καλή κατάσταση τα οστά και τους μύες του σώματος. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, αρκούν 15 λεπτά έκθεσης στο 5% της επιφάνειας του δέρματος, ώστε να παραχθεί η απαραίτητη για τον ανθρώπινο οργανισμό ποσότητα της βιταμίνης D. Η διατήρηση των επιπέδων της βιταμίνης στα επιθυμητά ποσά πραγματοποιείται στον οργανισμό μέσω της διατροφής [49].

Συνεπώς, η έλλειψη επαρκούς ποσότητας υπεριώδους ακτινοβολίας μπορεί να έχει αντίστοιχα δυσάρεστες συνέπειες για τον ανθρώπινο οργανισμό. Συγκεκριμένα, οι πιο συχνές ασθένειες που εμφανίζονται στον ανθρώπινο οργανισμό και σχετίζονται με την έλλειψη της βιταμίνης D είναι:

- ✓ **Γρίπη:** πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν τη συσχέτιση της ανεπάρκειας της βιταμίνης D σε νεαρή ηλικία με διάφορες ασθένειες του αναπνευστικού συστήματος [50].
- ✓ **Μυϊκή αδυναμία:** είναι γνωστό ότι έλλειψη της βιταμίνης D συσχετίζεται με την αδυναμία διαφόρων μυών του ανθρώπινου σώματος [51].
- ✓ **Ψωρίαση:** πρόσφατες μελέτες αναφέρουν ότι διάφορα συνθετικά ανάλογα της βιταμίνης D μπορούν να θεραπεύσουν την ψωρίαση [52].
- ✓ **Χρόνια νεφρική νόσος:** τα άτομα με χρόνιες παθήσεις των νεφρών αδυνατούν να συνθέσουν βιταμίνη D. Στην περίπτωση αυτή όμως η λήψη συγκεκριμένης ποσότητας σκευασμάτων βιταμίνης D μειώνει τον κίνδυνο χρόνιας νεφρικής νόσου [49].
- ✓ **Διαβήτης:** πρόσφατα επιστημονικά δεδομένα αναφέρουν ότι η επάρκεια βιταμίνης D καθ' όλη τη διάρκεια ζωής ενός ατόμου μειώνει σε σημαντικό βαθμό την εμφάνιση διαβήτη [53].
- ✓ **Άσθμα:** τα τελευταία χρόνια υπάρχουν ενδείξεις στην επιστημονική κοινότητα ότι η βιταμίνη D μπορεί να μειώσει τις κρίσεις άσθματος [54].
- ✓ **Περιοδοντίτιδα:** Η βιταμίνη D παράγει τα φυσικά αντιμικροβιακά πεπτίδια AMP που μειώνουν τον αριθμό των βακτηρίων που υπάρχουν στη στοματική κοιλότητα κι επομένως μειώνονται τα επεισόδια οιδήματος και αιμορραγίας που περιλαμβάνει η περιοδοντίτιδα [55].
- ✓ **Καρδιαγγειακή νόσος:** ερευνητές υποστηρίζουν ότι η ανεπάρκεια της βιταμίνης D σχετίζεται με τη συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια [56].
- ✓ **Κατάθλιψη:** ο υποδοχέας της βιταμίνης D στον εγκέφαλο είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες που εξασφαλίζουν την ψυχική ισορροπία του ατόμου. Συνεπώς η επάρκεια της βιταμίνης D που ενεργοποιεί τον εν λόγω υποδοχέα αποτρέπει την κατάθλιψη [57].
- ✓ **Καρκίνος:** σε γενικές γραμμές φαίνεται πως υψηλά επίπεδα βιταμίνης D μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης διαφόρων μορφών καρκίνου, εκτός από αυτούς που σχετίζονται με το δέρμα. Υπό αυτό το πλαίσιο, βρέθηκε θετική απόκριση ατόμων που έπασχαν από καρκίνο του μαστού και τους χορηγούνταν βιταμίνη D [58].

2.1.4. Άλλες χρήσεις της UV

Εκτός από τις προαναφερθείσες ευεργετικές ιδιότητες της υπεριώδους ακτινοβολίας, οι ακτινοβολίες βρίσκουν εφαρμογή σε αρκετούς τομείς της καθημερινότητας.

1. Εφαρμόζονται για την πλήρη θεραπευτική αντιμετώπιση κάποιας πάθησης, ή ακόμα και ως ανακουφιστικό μέσο από ενοχλητικά συμπτώματα που μπορεί να παρουσιάζει ο ασθενής [59].
2. Ως θεραπευτικό μέσο, άρχισαν πρόσφατα να χρησιμοποιούνται και οι δίοδοι εκπομπής φωτός (Led- Light-Emitting Diodes). Οι LED αποτελούν μικρού μεγέθους αποτελεσματικές

συσκευές, οι οποίες εκπέμπουν περιορισμένου εύρους ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, που κυμαίνεται από την υπεριώδη έως την ορατή [60].

3. Επιπλέον η υπεριώδης ακτινοβολία μπορεί να υιοθετηθεί για αισθητικούς λόγους. Όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, η δράση της επάγει την παραγωγή βιταμίνης D, αντισωμάτων, μελανίνης και την πάχυνση της επιδερμίδας από τον οργανισμό, ενώ αυξάνει την όρεξη και τη διάθεση για ύπνο. Εντούτοις η χρήση της για καθαρά αισθητικούς λόγους θα πρέπει να αποφεύγεται σε ασθενείς που πάσχουν από διαβήτη, φυματίωση, οξεία δερματίτιδα, υπερθυρεοειδισμό, υποθυρεοειδισμό, καρδιακή ή νεφρική ανεπάρκεια, σε περίπτωση έκθεσης σε ακτίνες X, καθώς και σε άτομα με ευαίσθητο δέρμα.
4. Χρησιμοποιούνται σε αντιμικροβιακές, μη φαρμακευτικές τεχνικές, [61],[62] αντικαθιστώντας παραδοσιακές θεραπευτικές μεθόδους. Πιο συγκεκριμένα, η υπεριώδης ακτινοβολία χρησιμοποιείται για τις βακτηριοκτόνες και χημικές ιδιότητές της, με τη χρήση λυχνιών ειδικού τύπου, τηρώντας συγκεκριμένο πρωτόκολλο αυστηρών και προκαθορισμένων δόσεων. Κάποια από τα προτερήματα της χρήσης υπεριώδους ακτινοβολίας, είναι η ισόποση αποτελεσματικότητα θανάτωσης των μικροβίων ανεξάρτητα από την αντιβιοτική αντίσταση. Εντούτοις, ένα από τα μειονεκτήματα της συγκεκριμένης τεχνικής έγκειται στην πιθανότητα εισαγωγής φωτοευαίσθητοποιητών μικροβιακών κυττάρων εντός του ιστού του ανθρώπινου οργανισμού. Η τεχνική της υπεριώδους ακτινοβολίας για θεραπευτικούς σκοπούς μπορεί να επιφέρει επιζήμιες συνέπειες στα κύτταρα των θηλαστικών γενικότερα και ενδεχομένως βλάβες στους επιμέρους ιστούς, που μπορεί να προκαλέσουν ακόμη και καρκινογενέσεις [63].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

3.1. Οξειδωτικό Στρες

Έχει διαπιστωθεί ότι το οξειδωτικό στρες συμβάλλει στην παθοφυσιολογία αρκετών ασθενειών όπως πολλές φλεγμονώδεις παθήσεις, αρκετές νευροεκφυλιστικές ασθένειες (νόσος Αλτσχάιμερ, νόσος του Πάρκινσον), αθηροσκλήρωση, καρκίνος, σακχαρώδης διαβήτης, καθώς και διάφορες ψυχολογικές ασθένειες [64].

Οξειδωτικό Στρες: Το οξειδωτικό στρες προκαλείται από την έλλειψη ισορροπίας ανάμεσα στην παραγωγή ελεύθερων ριζών και στην ικανότητα εξουδετέρωσής ή επισκευής των βλαβών που αυτές προκαλούν στις διάφορες βιολογικές λειτουργίες [65].

Οι παράγοντες που ενισχύουν το οξειδωτικό στρες στο δέρμα είναι οι αέριοι ρυπαντές, περιβαλλοντικοί ρύποι που παράγονται από τα αυτοκίνητα και τις βιομηχανίες, η υπερϊώδης ακτινοβολία, η λήψη φαρμάκων τα συντηρητικά τροφίμων κ.α. Αυτοί οι συχνοί τοξικοί παράγοντες και οι μεταβολίτες τους αποτελούν οξειδωτικοί παράγοντες οι οποίοι άμεσα ή έμμεσα προκαλούν την αύξηση της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS).

Οι δραστικές μορφές οξυγόνου έχουν μικρό χρόνο ζωής και συνεχώς παράγονται σε μικρά επίπεδα κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού αερόβιου μεταβολισμού των κυττάρων. Στις δραστικές μορφές οξυγόνου ανήκουν το μονήρες οξυγόνο (O_2), το υπεροξειδικό ανιόν (O_2^-), το υπεροξείδιο του υδρογόνου H_2O_2 , η ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH}^\cdot$). Το μονήρες οξυγόνο (O_2) σχηματίζεται κατά τη μεταφορά ενέργειας (φυσική ή χημική) στο μοριακό οξυγόνο (O_2), που σε θερμοκρασία περιβάλλοντος συμπεριφέρεται ως τριατομικό ή παραμαγνητικό. Το μονήρες οξυγόνο δεν έχει συζευγμένο ηλεκτρόνιο και είναι πολύ ισχυρό οξειδωτικό. Η σταδιακή διαδοχική μείωση του O_2 οδηγεί στο σχηματισμό υπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-), υπεροξειδίου του υδρογόνου H_2O_2 και της ρίζας υδροξυλίου ($\text{OH}^\cdot$). Οι αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών είναι συνήθως αλυσιδωτές αντιδράσεις. Για παράδειγμα λειτουργώντας ως δότης ηλεκτρονίου το υπεροξειδικό ανιόν (O_2^-) μπορεί να οδηγήσει στη παραγωγή ρίζας υδροξυλίου ($\text{OH}^\cdot$) μέσω της αντίδρασης Fenton και με την αλληλεπίδραση με το μονοξείδιο του αζώτου (NO) μπορούν να παραχθούν υψηλής δραστικότητας νιτρικά προϊόντα ($\text{NO}_3^\cdot$). Οι δέκτες ηλεκτρονίου, όπως το μοριακό οξυγόνο, αντιδρούν άμεσα με τις ελεύθερες ρίζες ενώ μετατρέπεται και το ίδιο ελεύθερη ρίζα. Μία επιπλέον πηγή ρίζας οξυγόνου στο δέρμα, όπως επίσης και σε άλλα όργανα, είναι τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα που έχουν άφθονα συστήματα παραγωγής οξειδωτικών παραγόντων.

Ελεύθερες ρίζες: Είναι μόρια ή τμήματα μορίων ή στοιχεία που φέρουν ένα ή περισσότερα μονήρη ασύζευκτα ηλεκτρόνια ($\downarrow$). Οι ελεύθερες ρίζες είναι ασταθείς-δραστικές ενώσεις και

τείνουν να αποσπούν ένα άτομο με ηλεκτρόνιο για τη δημιουργία ζεύγους ($\downarrow\uparrow$). [66]. Ο βασικός σκοπός της απελευθέρωσης των μεγάλων ποσοτήτων ROS κατά τη φλεγμονή είναι η καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών που έχουν εισέλθει ή η καταστροφή των ιστών που έχουν ήδη υποστεί βλάβη.

Η ύπαρξη ελεύθερων ριζών μπορεί να αποτελέσει αιτία δημιουργίας οξειδωτικής καταπόνησης. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκληθεί και σε γειτονικά υγιή κύτταρα επειδή οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) μπορούν να αντιδράσουν με οποιοδήποτε μόριο. Ο σίδηρος (Fe^{2+}) είναι ένας απαραίτητος καταλύτης για τη παραγωγή ελεύθερων ριζών λόγω της αντίδρασης Fenton. Ο χαλκός (Cu^+) είναι σχεδόν το ίδιο δραστικός όσο και ο σίδηρος ως καταλύτης αντιδράσεων αλλά είναι πιθανός μεταλλαξιόγonos παράγοντας λόγω της δυνατότητας αλληλεπίδρασης με τις βάσεις του DNA. Η βλάβη μάλιστα του DNA είναι μία από τις κυριότερες συνέπειες των UV επαγόμενων οξειδωτικών διεργασιών [67]. Όμως η επίδραση διάφορων αντιοξειδωτικών μορίων μπορεί να αναστρέψει αυτές τις αλλαγές στον κυτταρικό κύκλο.

Η UV ακτινοβολία προκαλεί οξειδωτική βλάβη με δύο μηχανισμούς: τον **Τύπο 1** (μεταφορά ηλεκτρονίου) και τον **Τύπο 2** που εξαρτάται από ένα φωτοευαισθητοποιητή. Στη δεύτερη περίπτωση, μεταφέρεται ενέργεια από το διεγερμένο φωτοευαισθητοποιητή στο μοριακό οξυγόνο και παράγεται O_2 με μακρά διάρκεια ζωής, ικανό να αλληλεπιδράσει με μόρια του κυττάρου. Η μεταφορά ηλεκτρονίου στο οξυγόνο οδηγεί στη δημιουργία υπεροξειδικού ανιόντος $\text{O}_2^{\cdot-}$ το οποίο μετατρέπεται σε H_2O_2 , πρόδρομο της εξαιρετικά τοξικής ρίζας υδροξυλίου $\text{OH}^\cdot$ [68]. Αυτά τα υψηλής δραστικότητας βραχύβια μόρια προκαλούν θραύσεις μονόκλωνου ή δίκλωνου DNA (single or double strand DNA), διασταυρούμενες ενώσεις και τροποποιήσεις των νουκλεοτιδικών βάσεων. Αυτές οι αλλοιώσεις μπορούν να οδηγήσουν σε μεταλλάξεις, όπως στη μεταστροφή της γουανίνης σε θυμίνη, που παρατηρείται συχνά σε καρκίνο του δέρματος. Λόγω χαμηλής ενέργειας ιονισμού, η γουανίνη είναι πιο επιρρεπής στη οξείδωση σε σχέση με την αδενίνη που έρχεται δεύτερη και με τις πυριμιδινικές βάσεις, όπως η κυτοσίνη και θυμίνη. Τα κύρια ενδιάμεσα που προκύπτουν από την αντίδραση **Τύπου 1** είναι κατιονικές ρίζες που υφίστανται ραγδαία ενυδάτωση ή αποπρωτονίωση. Υπό συνθήκες αναγωγής η ρίζα μετατρέπεται σε 2,6-διαμινο-4υδροξυ-5-φορμαμιδογουανίνη ενώ υπό οξειδωτικές συνθήκες π.χ. παρουσία μοριακού οξυγόνου, μετατρέπεται σε 8-οξο-7,8-διυδρο-2-δεοξυγουανίνη. Η αποπρωτονίωση οδηγεί σε μια σειρά αντιδράσεων που καταλήγουν στην παραγωγή ενός σταθερού προϊόντος, της οξαζολόνης.

Όσον αφορά την αντίδραση **Τύπου 2**, τα κύρια ενδιάμεσα είναι ενδοϋπεροξειδία που προκύπτουν από αντίδραση του ιμιδαζολικού δακτυλίου με δραστική μορφή οξυγόνου. Οι τροποποιήσεις των νουκλεοτιδικών βάσεων απαντούν συχνότερα μετά από έκθεση σε UVA

σε σχέση με τη σχάση της νουκλεοτιδικής αλυσίδας ή τις διασταυρούμενες διασυνδέσεις του DNA [69].

Εκτός από τις αλλαγές στο πυρηνικό DNA, αλλοιώσεις μπορούν να προκληθούν και στο μιτοχονδριακό DNA. Σε αυτή την περίπτωση, ο μηχανισμός επιδιόρθωσης είναι λιγότερο αποτελεσματικός και για το λόγο αυτό οι μεταλλάξεις συσσωρεύονται με σχετικά ταχύ ρυθμό. Οι μέχρι τώρα μεταλλάξεις που έχουν προσδιοριστεί είναι κυρίως απαλοιφές, οι οποίες μπορούν να μεταβάλουν την ικανότητα του κυττάρου για οξειδωτική φωσφορυλίωση [70]. Οι ROS προκαλούν ακόμα βλάβη στις κυτταρικές μεμβράνες, μέσω υπεροξειδωσής των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων της φωσφολιπιδικής βιολογικής μεμβράνης. Κατά τη διαδικασία αυτή σχηματίζονται μονοϋδροϋπεροξειδία λιπιδίων και ελεύθερες ρίζες. Τα υπεροξειδία των λιπιδίων έχουν σχετικά μεγάλη διάρκεια ζωής και επάγουν αλυσιδωτές αντιδράσεις που ενισχύουν την οξειδωτική βλάβη. Επιπλέον, οι επαγόμενες από UV ROS αντιδρούν και με τα αμινοξέα, οδηγώντας στην τροποποίηση πρωτεϊνών στον ιστό και σχηματίζοντας καρβονυλικά παράγωγα [69].

3.2. Οξειδωτικό στρες και φλεγμονή

Η δερματική φλεγμονή είναι η εστιασμένη τοπική αντίδραση του δέρματος σε κάποιον ερεθισμό, τραύμα, ασθένεια ή βλάβη. Μπορεί να οφείλεται σε ενδογενείς ή εξωγενείς παράγοντες. Ένας σημαντικός παράγοντας ο οποίος συχνά προκαλεί φλεγμονώδη αντίδραση στο δέρμα είναι η ηλιακή ακτινοβολία.[71].

Οι ROS παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία εμφάνισης της φλεγμονής καθώς αποτελούν κι αυτές μέρος της άμυνας του οργανισμού για την καταπολέμηση του μολυσματικού παράγοντα. Μάλιστα η σχέση φλεγμονής και οξειδωτικού στρες είναι αμφίδρομη, καθώς η πρώτη μπορεί να επάγει το δεύτερο και αντίστροφα [72]. Καταρχήν, τα λευκοκύτταρα που εμπλέκονται στη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης παρουσιάζουν συγχρόνως αύξηση της κατανάλωσης οξυγόνου που ονομάζεται «αναπνευστική έκρηξη» (respiratory burst). Κατά τη φάση αυτή παράγονται πολλές ελεύθερες ρίζες, καθώς και άλλες σχετικές με το οξυγόνο τοξικές ενώσεις, εκ των οποίων και το πολύ τοξικό υποχλωριώδες οξύ (HOCL), του οποίου η σύνθεση καταλύεται από μυελοϋπεροξειδάσες [73]. Ένας ακόμη ρόλος τους είναι η ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων, όπως αυτή του NF-κB. Αυτή η ενεργοποίηση οδηγεί στη σύνθεση των προφλεγμονωδών ιντερλευκινών και του TNF-α προωθώντας την κυτταρική νέκρωση και την απόπτωση [74] ενώ συγχρόνως ρυθμίζει την απελευθέρωση μορίων προσκόλλησης όπως των ICAM-1, CD11b και CD18 [75].

Το οξειδωτικό στρες επιτελεί επίσης σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση του υποδοχέα NLRP3 (NOD-like receptor protein 3) που οδηγεί στο σχηματισμό του αντίστοιχου φλεγμονώσματος. Το φλεγμονόσωμα είναι ένα πρωτεϊνικό μοριακό σύμπλεγμα που διεγείρει τη φυσική ανοσία και ενεργοποιεί την ωρίμανση και τα μονοπάτια έκκρισης της IL-1 β και της IL-18. Ο μηχανισμός ενεργοποίησης μπορεί να περιλαμβάνει, είτε ROS που απελευθερώνονται από μιτοχόνδρια που έχουν υποστεί βλάβη, είτε οξείδωση του μιτοχονδριακού DNA [72].

Τέλος, η αλλαγή νουκλεοτιδικών βάσεων επαγόμενη από ROS φαίνεται ότι είναι σημαντική για την πρόκληση φλεγμονής. Για παράδειγμα, το σύστημα επιδιόρθωσης νουκλεοτιδίων μπορεί να επάγει σηματοδοτικά μονοπάτια που καταλήγουν σε ενεργοποίηση του NF- κ B [72]. Επίσης, ένα παράγωγο αραχιδονικού οξέος που αποτελεί και δείκτη οξειδωτικού στρες, το ισοπροστάνιο-8, έχει διαπιστωθεί ότι αυξάνει την έκφραση της IL-8 στα μακροφάγα μέσω ενεργοποίησης των MAP κινασών [76]. Ο μηχανισμός ενεργοποίησης δεν είναι ακόμα απόλυτα κατανοητός, αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι οι ελεύθερες ρίζες λειτουργούν με τρεις τρόπους: α) επαγωγή ανεξάρτητης συσπείρωσης και ενεργοποίησης μεμβρανικών υποδοχέων όπως τον EGFR, β) απενεργοποίηση των φωσφατασών που αποφωσφορυλιώνουν και απενεργοποιούν τις MAP κινάσες και γ) τροποποίηση της πρωτεϊνικής δομής των υποδοχέων κινάσης της τυροσίνης και των MAPK οδηγώντας σε μη αναστρέψιμη ενεργοποίησή τους [77].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

4.1. Γενικά

Η συνεχής έκθεση στις βλαπτικές δράσεις των ελευθέρων ριζών έχει οδηγήσει τους οργανισμούς στην ανάπτυξη προστατευτικών μηχανισμών. Οι μηχανισμοί αυτοί αφορούν σε προληπτικούς μηχανισμούς, σε μηχανισμούς επιδιόρθωσης, σε φυσικά μέτρα προστασίας και σε αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς.

Ως *αντιοξειδωτικό* μπορεί να χαρακτηριστεί οποιαδήποτε ουσία, η οποία, όταν βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με εκείνες των υποστρωμάτων που πρόκειται να οξειδωθούν, καθυστερεί ή αναστέλλει την οξείδωση αυτών των υποστρωμάτων. Ο φυσιολογικός ρόλος των αντιοξειδωτικών, όπως προκύπτει και από τον ορισμό, είναι η αποφυγή της βλάβης των κυτταρικών συστατικών, ως συνέπεια των χημικών αντιδράσεων από τις οποίες προκύπτουν ελεύθερες ρίζες και η διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης.

Το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα αποτελείται τόσο από ενδογενή όσο και εξωγενή αντιοξειδωτικά.

Τα αντιοξειδωτικά διακρίνονται σε τρεις κύριες κατηγορίες: τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, τα αντιοξειδωτικά που διασπούν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις και τις πρωτεΐνες που δεσμεύουν τα μεταβατικά μέταλλα. [78]

4.2. Αντιοξειδωτικά ένζυμα

Καταλύουν τη διάσπαση των ελευθέρων ριζών (Reactive Oxygen Species, ROS) στο ενδοκυττάριο περιβάλλον.

4.2.1. Δισμουτάση του υπεροξειδίου (Superoxide dismutase, SOD). Η δισμουτάση του υπεροξειδίου, η οποία καταλύει τη μετατροπή ανιόντων υπεροξειδίου σε υπεροξείδιο του υδρογόνου ($2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ = \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$), αποτελεί ένα από τα πιο αποτελεσματικά ενδοκυττάρια ενζυμικά συστήματα. Αν και το ένζυμο αυτό απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1939, μόλις το 1969 οι McCord και Fridovich απέδειξαν την αντιοξειδωτική δράση της SOD. [78]

Η δισμουτάση του υπεροξειδίου απαντά σε αρκετές ισομορφές, οι οποίες διαφέρουν ως προς τη φύση του μετάλλου του ενεργού κέντρου, τη σύνθεση των αμινοξέων καθώς και τον αριθμό των υπομονάδων, τους συμπαραγόντες και άλλα χαρακτηριστικά. Στον ανθρώπινο οργανισμό απαντούν τρεις μορφές SOD, η κυτταροπλασματική CuZn- SOD, η μιτοχονδριακή MnSOD και η εξωκυττάρια SOD. Η SOD καταστρέφει τις O_2^- με απίστευτα υψηλές

ταχύτητες αντίδρασης με τη διαδοχική οξείδωση και την αναγωγή του μετάλλου του ενεργού κέντρου.

- Η CuZn-SOD είναι ένα ένζυμο με μοριακό βάρος περίπου 32 kDa, το οποίο αποτελείται από δύο ταυτόσημες υπομονάδες. Φέρει στο ενεργό κέντρο ιόντα χαλκού και ψευδαργύρου και η ενζυμική της δραστηριότητα είναι σχετικά ανεξάρτητη από το pH στο εύρος 5–9,5. Εκτός από το κυτταρόπλασμα απαντά και στο διάμεσο χώρο των μιτοχονδρίων.
- Η Mn-SOD είναι ένα ομοτετραμερές, με μοριακό βάρος 95 kDa, το οποίο περιέχει από ένα άτομο μαγγανίου στο ενεργό κέντρο κάθε υπομονάδας. Απαντά στη θεμέλια ουσία των μιτοχονδρίων, όπου και απομακρύνει τις ρίζες O_2^- που σχηματίζονται τόσο στη θεμέλια ουσία, όσο και στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων.
- Η εξωκυττάρια SOD είναι μια τετραμερής γλυκοπρωτεΐνη, η οποία φέρει χαλκό και ψευδάργυρο στο ενεργό κέντρο και έχει υψηλή συγγένεια για ορισμένες γλυκοζαμινογλυκάνες, όπως η ηπαρίνη και η θειική ηπαράνη. Η ρύθμισή της στους ιστούς των θηλαστικών φαίνεται να διενεργείται από τις κυτταροκίνες και όχι από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου. Ένα νέο συνένζυμο SOD, το οποίο περιέχει νικέλιο στο ενεργό κέντρο (Ni-SOD), απομονώθηκε πρόσφατα από στελέχη *Streptomyces* και από κυανοβακτήρια. Η Ni-SOD είναι μια μικρή πρωτεΐνη, που αποτελείται από 117 αμινοξέα και δεν εμφανίζει ομολογία με τις άλλες SOD [78].

4.2.2. Καταλάση. Η καταλάση απαντά στα αερόβια βακτήρια, στους μύκητες, στα κύτταρα των φυτών και των ζώων. Εντοπίζεται στα υπεροξεισώματα αλλά και στα μιτοχόνδρια της καρδιάς. Δεν ανευρίσκεται στα μιτοχόνδρια των κυττάρων άλλων ιστών. Καταλύει τη μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο σε δύο στάδια ($2H_2O_2 = \dots = O_2 + 2H_2O$). Ένα μόριο καταλάσης μπορεί να μετατρέψει ένα εκατομμύριο μόρια υπεροξειδίου του υδρογόνου ανά λεπτό.

4.2.3. Ένζυμα της οδού της φωσφορικής πεντόζης. Καταλύουν τις βιοχημικές αντιδράσεις της μεταβολικής οδού της φωσφορικής πεντόζης, η οποία αποτελεί την κύρια ενδοκυττάρια πηγή της NADPH.

4.2.4. Αναγωγή της γλουταθειόνης (GR). Τόσο η ενζυμική (διά των υπεροξειδασών της γλουταθειόνης) όσο και η μη ενζυμική αδρανοποίηση των ελευθέρων ριζών από την αναχθείσα γλουταθειόνη (GSH) οδηγεί σε παραγωγή οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG). Η GSSG απομακρύνεται από το κύτταρο, με αποτέλεσμα μείωση της ολικής ενδοκυττάριας γλουταθειόνης. Προκειμένου η γλουταθειόνη να εκπληρώσει το ρόλο της ως αντιοξειδωτική ουσία, απαιτείται η διατήρηση υψηλής ενδοκυττάριας αναλογίας αναχθείσας (GSH) προς οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG). Αυτό επιτυγχάνεται με μια βιοχημική αντίδραση, η οποία

εξαρτάται απόλυτα από τη NADPH. Η δραστηριότητα της GR μπορεί να αυξηθεί με δύο μηχανισμούς: Αύξηση των επιπέδων-δραστηριότητας της GR ή αύξηση των επιπέδων NADPH. [78]

4.2.5. Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPxs). Η δραστηριότητα υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης συνδυάζεται με σελήνιο και συνεπώς η δράση τους εξαρτάται από την επάρκεια της τροφής σε σελήνιο. Οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης καταλύουν την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου ή των υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων, χρησιμοποιώντας ως αναγωγική ουσία τη γλουταθειόνη ($2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$).

Αν και η αναγωγή του H_2O_2 γίνεται και από την καταλάση, τα σχετικά επίπεδα GPxs και καταλάσης διαφέρουν από ιστό σε ιστό. Χαρακτηριστικά παρατηρείται ότι ο εγκέφαλος έχει πολύ χαμηλά επίπεδα δραστηριότητας καταλάσης και υψηλά επίπεδα δραστηριότητας GPxs, ενώ το ήπαρ έχει υψηλά επίπεδα και των δύο ενζύμων.

4.2.6. Υπεροξειδάση της θειορεδοξίνης και αναγωγή της θειορεδοξίνης. Η υπεροξειδάση της θειορεδοξίνης ανάγει τόσο το H_2O_2 όσο και τα αλκυλδροϋπεροξειδία σε συνδυασμό με την αναγωγή της θειορεδοξίνης, τη θειορεδοξίνη και τη NADPH.

4.2.7. Συνένζυμο Q. Αποτελεί πηγή O_2^- όταν είναι μερικώς αναχθέν υπό τη μορφή της ημικινόνης, ενώ έχει αντιοξειδωτική δράση όταν έχει αναχθεί πλήρως. [78]

4.3. Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά που διακόπτουν την αλυσιδωτή αντίδραση

Όταν μια δραστική ρίζα αντιδρά με ένα μόριο παράγονται δευτερογενείς ρίζες, οι οποίες στη συνέχεια μπορούν να αντιδράσουν με άλλους στόχους με αποτέλεσμα την παραγωγή ακόμη περισσότερων ριζών. Κλασικό παράδειγμα αποτελεί η αλυσιδωτή αντίδραση υπεροξειδωσής των λιπιδίων, η οποία συνεχίζεται έως ότου δύο ρίζες ενωθούν προς σταθερό προϊόν ή εξουδετερωθούν από τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά. Τα λιποδιαλυτά και τα υδατοδιαλυτά μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά που διακόπτουν την αλυσιδωτή αντίδραση είναι μικρά μόρια, π.χ. γλουταθειόνη, βιταμίνη E, που μπορούν να λάβουν ηλεκτρόνιο από μια ρίζα ή να δώσουν ηλεκτρόνιο προς σχηματισμό σταθερών παραπροϊόντων. Η αντίδραση οδηγεί σε οξείδωση του αντιοξειδωτικού, το οποίο πρέπει να αναγεννηθεί ή να αντικατασταθεί. Εξ ορισμού, η αντιοξειδωτική ρίζα είναι σχετικά αδρανής και δεν μπορεί να αντιδράσει με άλλα μόρια.

4.3.1. Γλουταθειόνη. Η ιστορία της γλουταθειόνης αρχίζει το 1888, όταν ο de Ray Pailhand ανακάλυψε την ουσία “hydrogenant de soufre”, η οποία είχε την ιδιότητα να ανάγει το στοιχειακό θείο, και την οποία ονόμασε “philothion”. Αργότερα, η ουσία αυτή απομονώθηκε από το χημικό Hopkins και ονομάστηκε γλουταθειόνη. Τέλος, η ανακάλυψη της

γλουταθειονυλοσπερμιδίνης από τους Tabor και Tabor το 1975 και της τρυπανοθειόνης από τους Fairlamb et al το 1985 αποτέλεσε την αρχή των μελετών για τις αντιοξειδωτικές δράσεις της γλουταθειόνης. [78]

Η γλουταθειόνη, ένα τριπεπτίδιο με αναγωγικές και νουκλεόφιλες ιδιότητες, αποτελεί την κύρια αντιοξειδωτική θειόλη και τον κύριο ρυθμιστή της ενδοκυττάριας οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης. Απαντά είτε ως αναχθείσα (GSH) είτε ως οξειδωμένη (GSSG) μορφή και συμμετέχει στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις μέσω της αναστρέψιμης οξείδωσης της ενεργού θειόλης της. Ο λόγος GSH/ GSSG αποτελεί αξιόπιστο μέτρο του οξειδωτικού stress ενός οργανισμού. Σε κύτταρα που δεν έχουν υποβληθεί σε stress, το μεγαλύτερο μέρος (99%) αυτού του οξειδοαναγωγικού ρυθμιστή βρίσκεται σε αναχθείσα μορφή. Η γλουταθειόνη συντίθεται στο κυτταρόπλασμα από τα αμινοξέα L-γλουταμικό, L-κυστεΐνη και γλυκίνη σε δύο διαδοχικά βήματα, που καταλύονται από τα ένζυμα συνθετάση του διπεπτιδίου γ-γλουταμυλκυστεΐνη (Gsh1) και συνθετάση της γλουταθειόνης (Gsh2). Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση της γλουταθειόνης κυμαίνεται ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου και απαντά σε αφθονία στο κυτταρόπλασμα (0,5–11 mM), στον πυρήνα (3–15 mM) και στα μιτοχόνδρια (5–11 mM), όπου αποτελεί και την κύρια διαλυτή αντιοξειδωτική ουσία. Στον πυρήνα, η γλουταθειόνη διατηρεί την οξειδοαναγωγική κατάσταση των πρωτεϊνών που φέρουν σουλφυδρυλικές ομάδες και είναι απαραίτητες για την επιδιόρθωση και την έκφραση του DNA.

Οι κύριες προστατευτικές δράσεις της γλουταθειόνης στο οξειδωτικό stress είναι οι εξής:

- Η γλουταθειόνη δρα ως συνένζυμο πολυάριθμων ενζύμων που συμμετέχουν στην προστασία του κυττάρου, όπως υπεροξειδάσες γλουταθειόνης, τρανσφεράσες γλουταθειόνης, τρανσφεράσες θειόλης, αφυδρογονάση φορμαλδεϋδης, γλυοξαλάση I
- Συμμετέχει στη μεταφορά αμινοξέων διά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης
- Δεσμεύει άμεσα τη ρίζα υδροξυλίου και το μονήρες οξυγόνο και εξουδετερώνει το υπεροξείδιο του υδρογόνου και τα υπεροξείδια των λιπιδίων με την καταλυτική δράση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης
- Έχει την ικανότητα να επαναφέρει στην ενεργό μορφή τις σημαντικές αντιοξειδωτικές ουσίες, βιταμίνη C και βιταμίνη E, άμεσα ή έμμεσα. Η ικανότητα αυτή της γλουταθειόνης καθορίζεται από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του ζεύγους GSH/2GSSG. από τον Mills το 1957 και αποδόθηκε το 1973 σε ένα σεληνοένζυμο από τους Flohe et al και Rotruck et al. Στον άνθρωπο υπάρχουν δύο μορφές του ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. η μία μορφή εξαρτάται από το σελήνιο GPxs, ενώ η άλλη είναι ανεξάρτητη του σεληνίου (glutathione S-transferase GST). Αυτές οι δύο μορφές διαφέρουν ως προς τον αριθμό των υπομονάδων, τη φύση του δεσμού με το σελήνιο στο ενεργό κέντρο καθώς και ως προς τους

μηχανισμούς κατάλυσης. Σήμερα είναι πλέον γνωστές τέσσερις διαφορετικές GPxs (GPxs1-4) στα θηλαστικά, ενώ φέρουν όλες στην ενεργό θέση κυστεΐνη συνδεδεμένη [78].

4.3.2. Θειοαναγωγάσες TRX. Οι θειοαναγωγάσες είναι μικρές, σουλφυδρυλικές πρωτεΐνες με δραστηριότητα οξειδοαναγωγής. Στον άνθρωπο έχουν αναγνωριστεί τρία γονίδια θειορεδοξίνης (TRX1, TRX2 και sp TRX, η οποία παρουσιάζει υψηλή έκφραση στα σπερματοζώρια).

Οι TRX όλων των οργανισμών διαθέτουν ένα εξελικτικά συντηρητικό ενεργό κέντρο, το οποίο αποτελείται από τα αμινοξέα Cys-Gly-Pro-Cys. Ειδικοί πρωτεϊνικοί δισουλφιδικοί στόχοι αναγωγής, από την ομάδα των TRX, είναι πρωτεΐνες, όπως η ριβονουκλεοτιδική αναγωγή, η δισουλφιδική ισομεράση και αρκετοί μεταγραφικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των p53, NF-κB και AP-1. Επιπλέον, οι TRX αποτελούν δότες ηλεκτρονίων για πολλές υπεροξειδοαναγωγάσες, ιδιαίτερα σημαντικές για την αναγωγή των υπεροξειδίων. Ακόμα, αυτή η μικρή πρωτεΐνη μπορεί άμεσα να ανάγει μερικές δραστικές ρίζες οξυγόνου καθώς και να αναδιπλώσει οξειδωμένες πρωτεΐνες. Επίσης, επάγει αυτοκρινείς δράσεις ανάλογες με εκείνες των αυξητικών παραγόντων και των κυτταροκινών.

4.3.3. Βιταμίνη C. Η βιταμίνη C είναι υδατοδιαλυτή και ο κύριος ρόλος της είναι η συμμετοχή στη σύνθεση του κολλαγόνου. Επίσης, συμβάλλει στη φυσιολογική λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και διευκολύνει την απορρόφηση άλλων θρεπτικών συστατικών, όπως η βιταμίνη E και το σελήνιο. Έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, η οποία είναι ιδιαίτερα έκδηλη στους πνεύμονες και στο φακό του ματιού.

4.3.4. Βιταμίνη E. Η βιταμίνη E είναι λιποδιαλυτή και απαντά σε οκτώ διαφορετικές μορφές. Η α-τοκοφερόλη είναι η πλέον δραστική μορφή της βιταμίνης E στους ανθρώπους και αποτελεί ισχυρή αντιοξειδωτική ουσία. Η κύρια αντιοξειδωτική της δράση αφορά στην προστασία κατά της υπεροξείδωσης των λιπιδίων. Φαίνεται ότι το ασκορβικό οξύ και η βιταμίνη E λειτουργούν μαζί ως αντιοξειδωτικές ουσίες σε μια κυκλικού τύπου αντίδραση.

4.3.5. Καροτενοειδή. Πρόκειται για χρωστικές, που απαντούν στα φυτά και σε μικροοργανισμούς, αλλά δεν συντίθενται από τα ζώα. Ευθύνονται για το ερυθρό, το κίτρινο και το πορτοκαλί χρώμα των φρούτων και των λαχανικών. Στη φύση απαντούν περίπου 600 καροτενοειδή και ταξινομούνται στα καροτένια, τα ξανθόφιλα (περιέχουν οξυγόνο) και το λυκοπένιο.

4.3.6. Μέταλλα, όπως το σελήνιο, ο χαλκός, ο ψευδάργυρος.

4.3.7. **Μεταλλοθειονίνες.** Φαίνεται ότι υπάρχει άμεση συσχέτιση ανάμεσα στα ιόντα μετάλλων και στην αντίσταση στο οξειδωτικό stress. Αυτή η συσχέτιση ερμηνεύεται βιολογικά με βάση το ρόλο των ιόντων μετάλλων, ιδίως του Cu^{2+} και του Zn^{2+} , στην παραγωγή οξειδωτικών ουσιών. Οι μεταλλοθειονίνες είναι μια ομάδα μικρών πρωτεϊνών, πλούσιων σε κυστεΐνη, οι οποίες έχουν την ιδιότητα να συνδέουν διαφορετικά ιόντα μετάλλων. Αυτές οι πρωτεΐνες έχουν ιδιαίτερη σημασία στην αντιμετώπιση της τοξικότητας των μετάλλων, όπως ο Cu. [78]

Γενικά, οι μέθοδοι για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας και της ποσοτικοποίησης των χαμηλού μοριακού βάρους μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών είναι η απορρόφηση σε υπεριώδη μήκη κύματος UV αέρια χρωματογραφία - φασματομετρία μαζών (GS-MS) και η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) με ηλεκτροχημικό ανιχνευτή [79]. Ως γνωστόν, το δέρμα είναι εξοπλισμένο τόσο με ενζυμικά όσο και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά, η συγκέντρωση των οποίων είναι σημαντικά υψηλότερη στην επιδερμίδα σε σχέση με το χόριο. Πιθανότατα αυτό να οφείλεται στο γεγονός ότι η επιδερμίδα είναι περισσότερο εκτεθειμένη σε εξωγενείς πηγές οξειδωτικού στρες, με αποτέλεσμα να έχει εξελίξει σε μεγαλύτερο βαθμό την αντιοξειδωτική της άμυνα [80].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΕΓΚΑΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ

5.1. Γενικά

Έγκαυμα, μπορεί να χαρακτηριστεί ένας τραυματισμός ή μια βλάβη στο δέρμα ή στους υποκείμενους ιστούς που μπορεί να προκληθεί από υψηλής έντασης ηλιακή (υπεριώδη) ακτινοβολία (*ηλιακό έγκαυμα*), θερμότητα (*θερμικό έγκαυμα*), χημική ουσία (*χημικό έγκαυμα*) ή ηλεκτρικό ρεύμα (*ηλεκτρικό έγκαυμα*). Υπάρχουν τρεις βαθμοί ταξινόμησης ενός εγκαύματος, ανάλογα με το βάθος του ιστού του δέρματος που έχει υποστεί βλάβη. Οι τρεις βαθμοί είναι οι εξής: έγκαυμα πρώτου, δευτέρου και τρίτου βαθμού.

- Ο πρώτος βαθμός εγκαύματος αφορά σε βλάβη μόνο στην επιδερμίδα. Η περιοχή εμφανίζεται κόκκινη και προκαλεί ερεθισμό στο δέρμα.
- Ο δεύτερος αφορά σε βλάβη στην επιδερμίδας καθώς και σε ένα τμήμα του δέρματος. Στην περιοχή του δέρματος υπάρχει έντονη αίσθηση πόνου, χαρακτηριστική ερυθρότητα και φουσκάλες με υγρό.
- Ο τρίτος βαθμός εγκαυμάτων αφορά σε βλάβη της επιδερμίδας, του δέρματος και των υποδόριων στρωμάτων του δέρματος. Η καμένη περιοχή μπορεί να φαίνεται κόκκινη, καφέ ή μαύρη και διογκωμένη. Αυτή είναι η πιο σοβαρή από τις τρεις περιπτώσεις [81].

5.2. Ηλιακά εγκαύματα (ηλιακά ερυθήματα)

Είναι τα εγκαύματα που προκαλούνται από την παρατεταμένη έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία (UV). Ο απαιτούμενος χρόνος έκθεσης για την πρόκληση εγκαύματος διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο αλλά και από περιοχή σε περιοχή, καθώς εξαρτάται από δύο βασικούς παράγοντες: Τον τύπο του δέρματος και το γεωγραφικό πλάτος που βρισκόμαστε κατά την έκθεση στον ήλιο. Οι πιο ανοιχτόχρωμες επιδερμίδες, είναι πιο ευαίσθητες στην υπεριώδη ακτινοβολία και καίγονται πιο εύκολα. Παράλληλα, η έκθεση στον ήλιο σε περιοχές με γεωγραφικό πλάτος κοντά στον Ισημερινό συνήθως οδηγεί πιο γρήγορα σε έγκαυμα [82].

Τα ηλιακά εγκαύματα είναι εγκαύματα της επιδερμίδας που οφείλονται αποκλειστικά στην υπεριώδη ακτινοβολία και όχι στην θερμότητα των ηλιακών ακτίνων. Υπάρχουν τρία είδη υπεριώδους ακτινοβολίας, η UVA, η UVB και η UVC, που αντιστοιχούν σε διαφορετικά μήκη κύματος του ηλιακού φάσματος. Πιο βλαβερή είναι η ακτινοβολία UVB, καθώς συνδέεται πιο άμεσα με τον καρκίνο του δέρματος, ο οποίος προκαλείται από την πολύχρονη και αλόγιστη έκθεση στον ήλιο, χωρίς προστασία [82].

Τα περισσότερα ηλιακά εγκαύματα είναι επιφανειακά ή πρώτου βαθμού και εμφανίζονται ως ερυθρήμα ή φλεγμονή 4-6 ώρες μετά την έκθεση στον ήλιο (Εικόνα 1). Σε πιο σοβαρές περιπτώσεις, η φλεγμονή μπορεί να είναι επώδυνη και να καλυφθεί μέσα σε λίγες ώρες από μεγάλες φουσκάλες γεμάτες με κιτρινόχρωμο υγρό [82]. Το υγρό που περιέχεται σε αυτές είναι ορός. Η αιχμή του ερυθήματος (ή της φλεγμονής) εκδηλώνεται μέσα σε 12-24 ώρες και διαρκεί περίπου 4-7 ημέρες. Τυπικά καταλήγει σε απολέπιση (ξεφλούδισμα) [83].

Όταν προκληθεί ηλιακό έγκαυμα, το δέρμα γίνεται κόκκινο και πονάει. Αν το έγκαυμα είναι σοβαρό, μπορεί να παρουσιαστεί οίδημα και φουσκάλες. Μπορεί ακόμη να εκδηλωθούν και συμπτώματα που προσομοιάζουν αυτά της γρίπης –(πυρετός, ρίγη, ναυτία, κεφαλαλγία και αδυναμία). Λίγες μέρες αργότερα, το δέρμα θα αρχίσει να ξεφλουδίζει και να παρουσιάζει κνησμό, καθώς το σώμα θα προσπαθεί να απαλλαγεί από τα κύτταρα, που έχουν υποστεί βλάβη από τον ήλιο [84].



Εικόνα 4: Κλασική εικόνα ηλιακού ερυθήματος έπειτα από ηλιοθεραπεία [83].

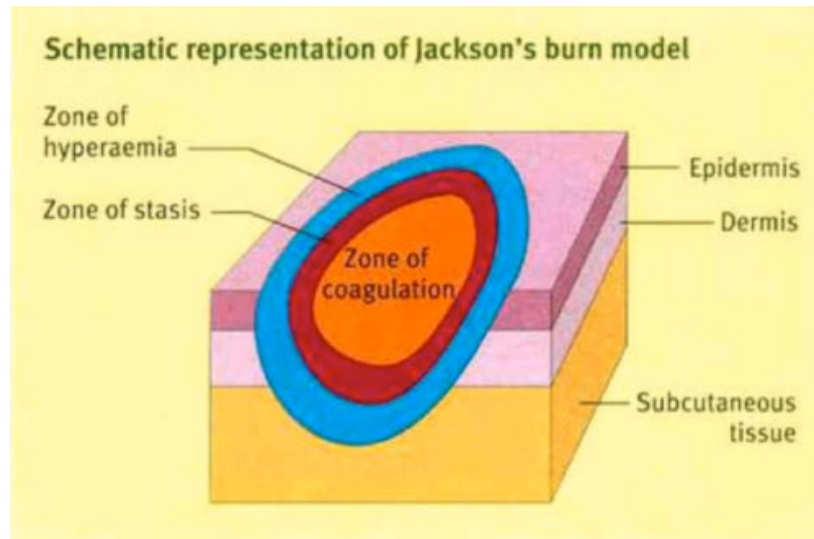
5.2.1. Το μοντέλο τραύματος εγκαύματος του Τζάκσον

Μοντέλο τραύματος του Τζάκσον αποτελεί ένα μοντέλο προσομοίωσης του εγκαύματος που έχει οριστεί για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας του [85-891]. Στη ζώνη πήξης πλησιέστερα στην πηγή θερμότητας (“zone of coagulation”) λαμβάνει χώρα η πρωτογενής βλάβη. Σε αυτή τη ζώνη η νέκρωση του ιστού είναι μη αναστρέψιμη στο κέντρο του εγκαύματος και μπορεί να προέλθει από έκθεση σε θερμότητα, χημικά ή ηλεκτρική ενέργεια. Η έκταση αυτής της βλάβης εξαρτάται από τη θερμοκρασία (ή τη συγκέντρωση) και τη διάρκεια της έκθεσης.

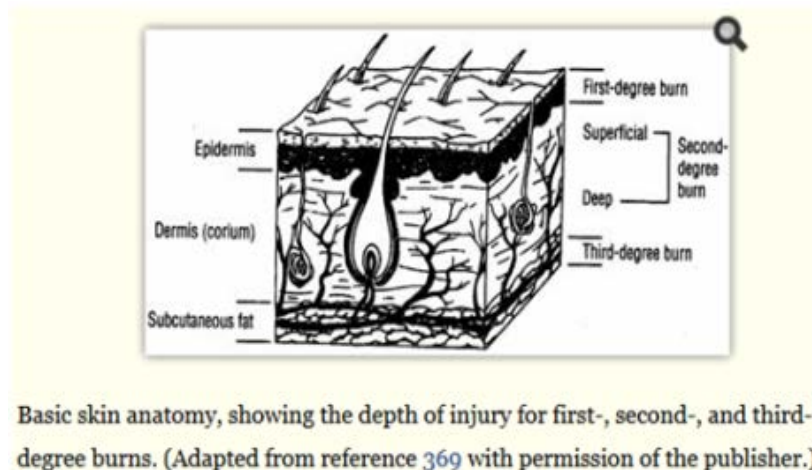
Γύρω από την κεντρική ζώνη της νέκρωσης βρίσκεται μία ζώνη ισχαιμίας (“zone of stasis”), στην οποία υπάρχει μία μείωση στη δερματική κυκλοφορία. Στην περιοχή αυτή ο ιστός είναι

κατεστραμμένος, αλλά ουσιαστικά βιώσιμος. Αυτή η ισχαιμική ζώνη μπορεί να εξελιχθεί σε πλήρως νεκρωτική εκτός αν η ισχαιμία αντιστραφεί. Εάν η ισχαιμία δεν υποχωρήσει, σε περιπτώσεις όπου η ανάνηψη και η φροντίδα του τραύματος δεν επαρκούν, τότε η ισχαιμία μπορεί να επιδεινωθεί και το βάθος του εγκαύματος να αυξηθεί.

Στην περιφέρεια του εγκαύματος απαντάται μια τρίτη ζώνη, η *ζώνη της υπεραιμίας*, η οποία χαρακτηρίζεται από αναστρέψιμη αύξηση στη ροή του αίματος και της φλεγμονής [85,-[91].



Εικόνα 5: Ανατομία του φυσιολογικού δέρματος και του ενδεχόμενου βάθους τραυματισμού [92].



Basic skin anatomy, showing the depth of injury for first-, second-, and third-degree burns. (Adapted from reference 369 with permission of the publisher.)

Εικόνα 6: Ανατομία του φυσιολογικού δέρματος και του ενδεχόμενου βάθους τραυματισμού [92].



Εικόνα 7: Ενδεικτικές απεικονίσεις εγκαυμάτων πρώτου, δεύτερου και τρίτου βαθμού [81].

5.3. Μέθοδοι Αντιμετώπισης των Εγκαυμάτων

Η μέθοδος αντιμετώπισης των επιφανειών που έχουν υποστεί έγκαυμα διαφέρει από κέντρο σε κέντρο και αποτελεί θέμα συζητήσεων μέχρι σήμερα. Δύο μέθοδοι συντηρητικής θεραπείας που εφαρμόζονται είναι η *κλειστή* και η *ανοικτή*.

5.3.1 Κλειστή μέθοδος

Η κλειστή μέθοδος βασίζεται στην επίδεση των προσβεβλημένων επιφανειών με κατάλληλο επιδεσμικό υλικό (επιθέματα - γάζες). Για να είναι αποτελεσματική η επίδεση, πρέπει να εξασφαλίζει: [93]

- ✓ Διατήρηση υγρού περιβάλλοντος
- ✓ Προφύλαξη των εγκαυματικών επιφανειών από επιμολύνσεις (βακτηριδιακό φράγμα)
- ✓ Αδιάλειπτη ανταλλαγή των αερίων
- ✓ Διαχείριση της περίσσειας των εκκρίσεων
- ✓ Ελαστικότητα και προσαρμοστικότητα
- ✓ Απουσία αντιγονικότητας

Τα πλεονεκτήματα της *κλειστής μεθόδου* είναι:

- Μείωση της απώλειας υγρού
- Ελάττωση των απωλειών θερμότητας
- Ελάττωση του καταβολισμού
- Επιτάχυνση της ρευστοποίησης και απόπτωσης των νεκρωμάτων

5.3.2. Ανοικτή μέθοδος

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη φροντίδα των επιφανειών που έχουν υποστεί έγκαυμα χωρίς τη χρήση επιδέσεων. Οι επιφάνειες επαλείφονται με αντισηπτικές, αυτολυτικές ή επουλωτικές ουσίες και αφήνονται εκτεθειμένες στον ατμοσφαιρικό αέρα. [94]

Τα πλεονεκτήματα της ανοικτής μεθόδου είναι:

- Μείωση της πιθανότητας επιμόλυνσης λόγω της ξήρανσης των εσχαρών
- Δυνατότητα συνεχούς ελέγχου της κυκλοφορίας των άκρων και της αναπνοής
- Άμεσος, συνεχής έλεγχος των προσβεβλημένων επιφανειών
- Απρόσκοπτη κινησιοθεραπεία και κινητοποίηση του ασθενούς
- Μείωση του κόστους θεραπείας λόγω μη χρήσης επιδεσμικού υλικού

Τόσο η κλειστή όσο και η ανοικτή μέθοδος εμφανίζουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου κάθε φορά πρέπει να βασίζεται σε συγκεκριμένα κριτήρια:

1. **Ανατομική περιοχή:** Η ανοικτή μέθοδος είναι επιβεβλημένη στα εγκαύματα του προσώπου και του περινέου, όπου η επίδεση είναι πρακτικά ανέφικτη.
2. **Βαρύτητα εγκαύματος:** Ελαφρά εγκαύματα περιορισμένης έκτασης είναι προτιμότερο να αντιμετωπίζονται με κλειστή μέθοδο.
3. **Είδος και βάθος εγκαύματος:** Τα επιφανειακά, τα εγκαύματα ολικού πάχους, τα βαθιά μερικού πάχους, τα χημικά και τα ηλεκτρικά εγκαύματα αντιμετωπίζονται με ανοικτή μέθοδο.

Αντίθετα, τα επιπολής μερικού πάχους εγκαύματα μπορούν να αντιμετωπιστούν με κλειστή μέθοδο, καλυπτόμενα με συμβατικό, βιολογικό ή συνθετικό επιδεσμικό υλικό καθώς έτσι φαίνεται ότι επιτυγχάνεται ταχύτερη επούλωση.

4. **Συνθήκες νοσηλείας και κατάσταση εγκαυμάτων:** Η κλειστή μέθοδος είναι προτιμότερη για εγκαύματα ασθενών που δεν νοσηλεύονται σε κατάλληλους, άσηπτους χώρους. Η ίδια μέθοδος είναι υποχρεωτική μετά την κάλυψη των προσβεβλημένων επιφανειών με δερματικά μοσχεύματα. Αντίθετα, ανοικτή μέθοδος επιβάλλεται σε περιπτώσεις ήδη μολυσμένων εγκαυμάτων. [94]

Πίνακας 1: Συνοπτική παρουσίαση ενδείξεων ανοικτής και κλειστής μεθόδου αντιμετώπισης των εγκαυμάτων[94]

<i>Ενδείξεις ανοικτής μεθόδου</i>	<i>Ενδείξεις κλειστής μεθόδου</i>
• Εγκαύματα προσώπου και περινέου • Επιφανειακά εγκαύματα • Βαθιά μερικού πάχους εγκαύματα • Ολικού πάχους εγκαύματα • Ηλεκτρικά εγκαύματα • Χημικά εγκαύματα • Μολυσμένα εγκαύματα	• Ελαφρά, μικρά εγκαύματα που δεν απαιτούν νοσηλεία • Επιπολής μερικού πάχους εγκαύματα • Εγκαύματα που νοσηλεύονται σε ακατάλληλους χώρους • Εγκαύματα μετά από χειρουργική θεραπεία (πχ δερματικά μοσχεύματα)

5.4. Κλειστή μέθοδος

5.4.1 Επιθέματα

Το επίθεμα είναι ένα υλικό τοποθετημένο σε άμεση επαφή με ένα ανοιχτό τραύμα για να αποφευχθεί η περαιτέρω βλάβη και να προωθηθεί η επούλωση. Παραδοσιακά, η “wet-to-dry” γάζα έχει χρησιμοποιηθεί κατά κόρον σε τέτοιες περιπτώσεις ύπαρξης ανοικτής πληγής. Παρ’όλα αυτά, η γάζα στεγνώνει το τραύμα και προκαλεί περαιτέρω βλάβη όταν αφαιρείται. Για το λόγο αυτό έχει διαπιστωθεί ότι επιθέματα που διατηρούν ένα υγρό περιβάλλον, παρέχουν βέλτιστες συνθήκες για την επούλωση [94].

5.4.1.1. Παραδοσιακά επιθέματα

Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της κατηγορίας είναι η κλασική γάζα βαμβακιού (επίδεσμος), η οποία καθιερώθηκε στα μέσα της δεκαετίας του 1970. Αυτό το υλικό χαρακτηριζόταν από χαμηλό κόστος, εύκολη κατασκευή και χρήση. Ωστόσο, κάποια σημαντικά μειονεκτήματα περιόριζαν τη χρήση του. Συγκεκριμένα, λόγω σύνθεσης και υλικού, η γάζα παρουσιάζει μεγάλη απορροφητική ικανότητα στα εκκρίματα του τραύματος, προκαλώντας έτσι τη γρήγορη αφυδάτωσή του και ευνοώντας τη βακτηριακή ανάπτυξη και μόλυνση. Επιπλέον, στο τέλος της θεραπείας, η αφαίρεση της από το τραύμα προκαλεί αιμορραγία ή βλάβη στην ανανεωμένη επιθηλιακή χλωρίδα. Για την αντιμετώπιση αυτών των μειονεκτημάτων, έχουν κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί άλλες μέθοδοι για την παρασκευή επιθεμάτων σύνθετης γάζας-βαμβακιού σε συνδυασμό με άλλο υλικό κατασκευασμένο με μη κολλητική εσωτερική επιφάνεια, για να ανακουφίζει τον πόνο και να ελαχιστοποιεί τη βλάβη του ανανεωμένου δέρματος κατά την αφαίρεση του επιθέματος. Για παράδειγμα, η γάζα βαμβακιού επικαλύφθηκε με νανοσύνθετα χιτοζάνης-Ag-ZnO, με αποτέλεσμα την δημιουργία ενός επιθέματος με ενισχυμένες ιδιότητες, αυξημένη ικανότητα διόγκωσης και βελτιωμένη αντιβακτηριακή δράση έναντι της *Escherichia coli* και του *Staphylococcus aureus* [95].

5.4.1.2. Βιολογικά επιθέματα

Τα βιολογικά επιθέματα, τα οποία σε πολλές περιπτώσεις χρησιμοποιούνται και ως μοσχεύματα, θεωρούνται τα πιο κατάλληλα υλικά για την πλήρη θεραπεία των βαθιών, χρόνιων πληγών και εγκαυμάτων. Αυτή η μέθοδος στηρίζεται στη μεταμόσχευση φυσιολογικού, ζωντανού δέρματος από ξένους φορείς π.χ. ανθρώπους, ζώα ή πτώματα. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται σε αυτού του είδους τη μέθοδο είναι υλικά προερχόμενα από δομή του κολλαγόνου, συμπεριλαμβανομένης της ελαστίνης και των λιπιδίων. Το βασικό μειονέκτημα αυτών των υλικών είναι η ανεπάρκεια των ιστών για τη χρήση τους σε περιπτώσεις βαθιών ή μεγάλων πληγών, που οδηγεί στην αναζήτηση νέου δότη ιστών [95].

5.4.1.3. Τεχνητά επιθέματα

Τα τεχνητά επιθέματα κατασκευάζονται από συνθετικά υλικά, όπως μη βιολογικά υλικά και πολυμερή που δεν βρίσκονται στα συστατικά του δέρματος. Τα επιθέματα αυτά, μετά τη σύνθεσή τους, θα πρέπει να είναι ακίνδυνα, μηχανικά σταθερά, βιοδιασπώμενα και να δημιουργούν ένα κατάλληλο και φιλικό περιβάλλον για την επισκευή και την αναγέννηση

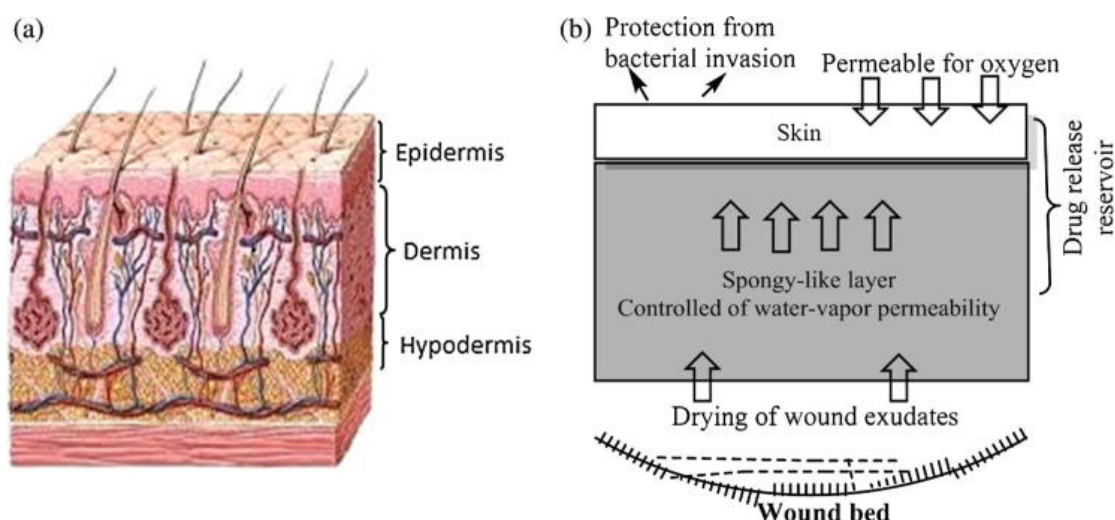
των ιστών. Παραδείγματα αυτής της μορφής επιθέματων είναι τα πολυμερικά επιθέματα που χρησιμοποιούνται σε διάφορες μορφές όπως μεμβράνες, αφροί, υδρογέλες, αλγινικά άλατα και υδροκολλοειδή [95]

5.4.2. Αντιμετώπιση εγκαυμάτων με επιθέματα (Λόγοι/Τρόπος χρήσης)

Η θεραπεία των ηλιακών εγκαυμάτων έχει σχεδιαστεί έτσι, ώστε να επιτυγχάνεται παράλληλα, αφενός η καταπράυνση του ερυθρουσμένου, φλεγμονώδους δέρματος και αφετέρου η ανακούφιση από τον πόνο. Επειδή το έγκαυμα αποτελεί ουσιαστικά μια ανοιχτή πληγή, ο χρόνος επούλωσής του μπορεί να επηρεαστεί σε μεγάλο βαθμό από εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η υγρασία, η επιμόλυνση από ακαθαρσίες και τα βακτήρια. Προκειμένου να προστατευθεί η περιοχή του εγκαύματος και να επιταχυνθεί ο χρόνος αποκατάστασης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν επιθέματα ποικίλων ειδών.

Το ιδανικό επίθεμα για έναν ασθενή με έγκαυμα πρέπει να έχει τα εξής χαρακτηριστικά:

- ✓ Να προστατεύει την πληγή από τη μηχανική κάκωση
- ✓ Να έχει εύκολη εφαρμογή και αφαίρεση
- ✓ Να είναι άνετο, ανθεκτικό και να μην προκαλεί ερεθισμό
- ✓ Να είναι μη τοξικό, μη ερεθιστικό και μη προσκολλητικό
- ✓ Να επιτρέπει την ανταλλαγή αερίων
- ✓ Να επιτρέπει την ύπαρξη υψηλού επιπέδου υγρασίας στο τραύμα
- ✓ Να είναι συμβατό με τοπικούς παράγοντες (βιοσυμβατό)
- ✓ Να επιτυγχάνει μέγιστη δράση για την επιτάχυνση της επούλωσης [98]



Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση της φυσιολογικής δομής του δέρματος (a) και σχεδιασμός ενός ιδανικού επιθέματος επικάλυψης πληγής (b). [95].

5.4.3. Τύποι επιθεμάτων

Σύμφωνα με τη British Medical Journal, υπάρχουν δύο κύριοι τύποι επιθεμάτων για ηλιακά εγκαύματα, οι οποίοι παρατίθενται και περιγράφονται παρακάτω:

5.4.3.1. Επιθέματα χαμηλής προσκόλλησης

- Έχουν χαμηλό κόστος και είναι ευρέως διαθέσιμα
- Η σημαντικότερη λειτουργία τους είναι να επιτρέπουν τη διέλευση του εξιδρώματος σε ένα δευτερεύων επίδεσμο, εξασφαλίζοντας παράλληλα ένα υγρό υπόστρωμα στο τραύμα. Είναι σχεδιασμένα για να μειώνουν την προσκόλληση στο σημείο του τραύματος.
- Τα περισσότερα κατασκευάζονται από υλικά με ύφανση από ανοιχτό ύφασμα που υφαίνεται σε μαλακή παραφίνη ή χλωρεξιδίνη, από υφάσματα ή από πολυστρωματικές ή διάτρητες πλαστικές μεμβράνες [93].

5.4.3.2. Ημιδιαπερατά φιλμ

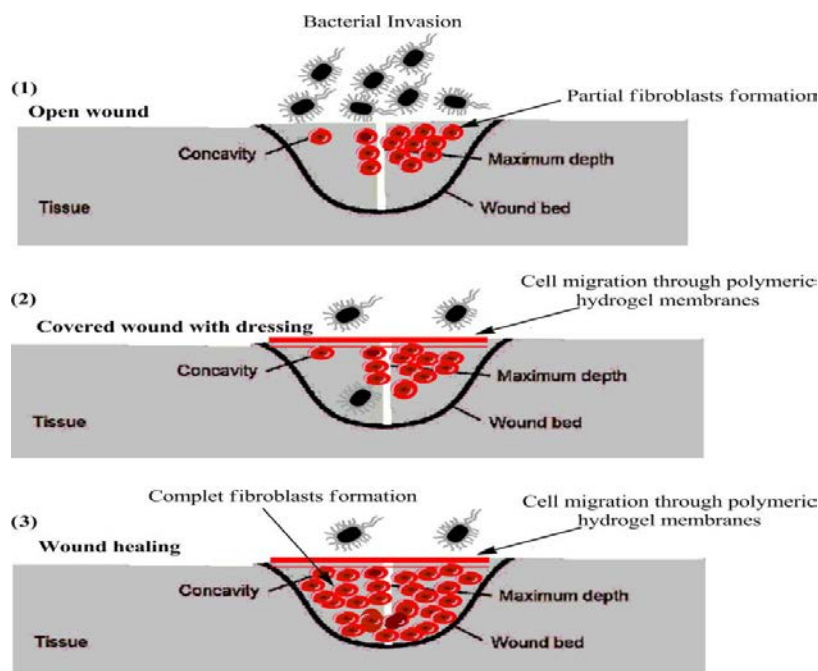
- Είναι στείρα πλαστικά φύλλα, συνήθως πολυουρεθάνης, επικαλυμμένα με υποαλλεργική ακρυλική κόλλα, που χρησιμοποιούνται κυρίως ως διαφανές κάλυμμα πρωτοβάθμιας πληγής
- Είναι αδιάβροχα σε υγρά και αδιαπέραστα από βακτήρια, αλλά διαπερατά από αέρα και υδρατμούς, δημιουργώντας ένα υγρό περιβάλλον στην πληγή.
- Είναι ευέλικτα και κατάλληλα για πληγές σε "δύσκολες" ανατομικές περιοχές
- *Αρνητικά:* δεν είναι σε θέση να αντιμετωπίσουν μεγάλες ποσότητες εξιδρώματος, καθώς μπορεί να προκαλέσουν διαβροχή του δέρματος που περιβάλλει το υπόστρωμα του τραύματος [93].

Αυτά τα ημιδιαπερατά επιθέματα μπορούν να κατασκευαστούν από μια ποικιλία υλικών, καθένα από τα οποία προσφέρει διαφορετικά πλεονεκτήματα στους διάφορους τύπους εγκαυμάτων.

- *Υδροκολλοειδή:* Αυτός ο τύπος επιθέματος διατηρεί ένα περιβάλλον υγρασίας στην περιοχή του εγκαύματος και βοηθάει στην επούλωση επειδή περιέχει κολλοειδή σωματίδια όπως ζελατίνη, πηκτίνη και κυτταρίνη. Έχει επίσης μια πολύ κολλητική μεμβράνη ή αφρώδες υπόστρωμα. Επίσης είναι αδιαπέραστο στους υδρατμούς. Μερικά ακόμη πλεονεκτήματα των υδροκολλοειδών επιθεμάτων είναι ότι μειώνουν τον πόνο του τραύματος, παρέχουν μόνωση λόγω της καλυπτικής τους ιδιότητας (φραγμός) και επιτρέπουν στους ασθενείς να συνεχίσουν καθημερινές δραστηριότητες, όπως η κολύμβηση χωρίς να διακινδυνεύεται η επιμόλυνση του τραύματος [96]. Ένας νέος τύπος υδροκολλοειδούς επιθέματος αποτελείται από ένα

υδροφίλο, μη υφασμένο (nonwoven) επίπεδο φύλλο κατασκευασμένο από ίνες υδροκολλοειδούς, το οποίο κατά την επαφή του με το εξίδρωμα της πληγής μετατρέπεται από στεγνό φύλλο σε φύλλο μαλακής γέλης [93].

- *Υδρογέλες*: Τα επιθέματα υδρογέλης αποτελούνται κατά 80-99% από νερό ή γλυκερίνη. Διατίθενται σε φύλλα, πηκτές και εμποτισμένες γάζες και είναι σχεδιασμένα για να παρέχουν ένα υγρό περιβάλλον, που προσθέτει μόρια νερού σε αφυδατωμένους ιστούς. Χρησιμοποιούνται για ποικίλες πληγές, συμπεριλαμβανομένων τραυμάτων με ελάχιστη έως μηδενική περίσσεια υγρού, μολυσμένων τραυμάτων, νεκρωτικών τραυμάτων, ελκών πίεσης, σημείων δοτών και εγκαυμάτων δευτέρου ή τρίτου βαθμού. Οι υδρογέλες μπορούν να κάνουν το δέρμα να νιώθει δροσερό, πράγμα που βοηθά στη μείωση του πόνου [96].
- *Υδρογέλες με Μαλαλεύκη*: Πρόκειται για επιθέματα υδρογέλης με την προσθήκη μαλαλεύκης. Παρέχουν υγρασία στο τραύμα, όπως κάνουν και οι υπόλοιπες υδρογέλες και η προσθήκη της μαλαλεύκης μπορεί να ελαχιστοποιήσει τον κίνδυνο μόλυνσης και να βοηθήσει στη μείωση του πόνου καθώς έχει αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Αυτά τα προϊόντα δεν συνιστώνται ως βέλτιστες πρακτικές για εγκαύματα πρώτων βοηθειών, αλλά είναι ένας κατάλληλος επίδεσμος για μικρά επιφανειακά εγκαύματα μετά την παροχή των πρώτων βοηθειών, ιδιαίτερα αν ο πόνος είναι το μεγαλύτερο πρόβλημα για τον ασθενή [97]. Σίγουρα δεν αντικαθιστούν την αναλγησία, αλλά μπορούν να συμβάλουν στην ανακούφιση από τον πόνο.



Εικόνα 9: Σχηματική αναπαράσταση του ρόλου των επιθεμάτων υδρογέλης στην επούλωση του τραύματος. [95].

- *Αλγινικά:* Τα επιθέματα από αλγινικά παράγονται από ίνες που προέρχονται από φαιοφύκη (*Phaeophyceae*) και μπορούν να είναι είτε υφασμένα (woven) είτε μη υφασμένα (non woven). Όταν τοποθετούνται σε ένα τραύμα, τα αλγινικά επιθέματα, διαλύονται εν μέρει και αντιδρούν για να σχηματίσουν μια γέλη δημιουργώντας ένα υγρό περιβάλλον [93]. Επειδή τα αλγινικά είναι διαπερατά, χρειάζονται και δευτερογενή επιθέματα όπως η γάζα. Χρησιμοποιούνται για παροχέτευση μέτριων έως μεγάλων εκτάσεων πληγών, για φλεβικά έλκη, για κλείσιμο βαθιών πληγών και για έλκη πίεσης βαθμού III ή IV. Τα αλγινικά επιθέματα είναι ιδιαίτερα απορροφητικά και δεν κολλούν στο τραύμα, γι' αυτό η αφαίρεση είναι εύκολη. Ωστόσο, δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται σε πληγές με ελάχιστη ή μηδενική έκκριση [96].
- *Κολλαγόνο:* Αυτός ο τύπος επιθέματος είναι πολύ χρήσιμος για τις θεραπευτικές του ιδιότητες. Χρησιμοποιείται είτε σε μορφή πηκτής ή σκόνης, είτε σε μορφή παραδοσιακού ενιαίου επιθέματος. Τα επιθέματα κολλαγόνου χρησιμοποιούνται σε πολλές περιπτώσεις σε εγκαύματα δευτέρου ή μεγαλύτερου βαθμού και σε πληγές μεγάλης επιφάνειας. Είναι απορροφητικά, μη διαπερατά από μολυσματικούς παράγοντες και έχουν την ικανότητα να δημιουργούν ένα υγρό περιβάλλον, που υποκινεί τη δημιουργία κυττάρων ινοβλαστών [96].
- *Επιθέματα σιλικόνης:* Αυτά τα επιθέματα είναι επικαλυμμένα από στρώμα μαλακής σιλικόνης που έρχεται σε επαφή με το τραύμα, κάτι το οποίο επιτρέπει την αφαίρεση, χωρίς να τραυματίζει περαιτέρω το τραύμα ή τον περιβάλλοντα ιστό. Είναι κατάλληλα για όλους τους τύπους μικρών επιφανειακών δερματικών εγκαυμάτων, που δεν απαιτούν αντιμικροβιακούς παράγοντες. Ωστόσο, δεν παρουσιάζουν απορροφητική δράση. Οι απορροφητικοί δευτερεύοντες επίδεσμοι μπορούν να εφαρμοστούν, ώστε να διαχειριστούν το σημαντικό έκκριμα που αναμένεται στις αρχικές ημέρες μετά τον τραυματισμό. Είναι ακριβότερα από άλλα είδη επιθεμάτων, αλλά έχουν σημαντικά μεγαλύτερο χρόνο φθοράς, έως και 7 ημέρες. Εάν το έγκαυμα απαιτεί συχνή αλλαγή μετά τον τραυματισμό, οι σιλικόνες αποτελούν μια ακριβή επιλογή, καθώς θα πρέπει να αντικαθίστανται συνέχεια. Σε αυτήν την περίπτωση θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η χρήση κάποιου άλλου προϊόντος [97].
- *Αφρώδη επιθέματα:* Είναι επιθέματα επικαλυμμένα με αφρό πολυουρεθάνης, μη προσκολλητικά και διατίθενται σε διάφορα μεγέθη και πάχη με ή χωρίς προστατευτικά σύνορα. Έχουν την ικανότητα να απορροφούν νερό και να διατηρούν μια υγρή διεπαφή στην επιφάνεια του τραύματος. Ακόμη, είναι διαπερατά στους υδρατμούς, αλλά περιορίζουν τα περιβαλλοντικά παθογόνα. Τα επιθέματα αφρού χρησιμοποιούνται κυρίως σε εγκαύματα με μέτρια ή βαριά εξιδρώματα. Δεν είναι κατάλληλα για ελαφρώς ξεθωριασμένα τραύματα καθώς στεγνώνουν το κάψιμο. Μπορούν να παραμείνουν άθικτα για αρκετές ημέρες,

ανάλογα με την ποσότητα της υγρασίας του τραύματος. Σε περιπτώσεις που δεν έχουν ενσωματωμένο περίγραμμα, θα πρέπει να ασφαλίζονται με ταινία [97].

5.4.3.3. Πολυμερικά επιθέματα νανοϊνών

- *Επιθέματα από νανοϊνες πολυβινυλικής αλκοόλης (PVA), επικαλυμμένα από χιτοζάνη:* Είναι βιομιμητικά, παρουσιάζουν ισχυρή μηχανική σταθερότητα και ευελιξία (εφελκυσμό) και επιταχύνουν σημαντικά την επούλωση[99, 100-105] .
- *Επιθέματα υπερδιακλαδισμένης πολυγλυκερόλης (Hyperbranched polyglycerol, HPGL) με εκχυλίσματα Καλέντουλας:* Λόγω των ιδιοτήτων της *Calendula*, τα επιθέματα αυτά παρουσιάζουν ισχυρή αντιφλεγμονώδη (από ίνες με ελεγχόμενη αποδέσμευση) και επουλωτική δράση[99,100-105].
- *Επιθέματα διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2) με ενσωματωμένα νανοσωματίδια αργύρου:* Τα επιθέματα αυτά παρουσιάζουν ευελιξία και μηχανική σταθερότητα, ενώ τα νανοσωματίδια αργύρου έχουν δείξει μακροχρόνια αντιβακτηριδιακή δράση[99, 100-105] .
- *Επιθέματα νανοϊνών από οξείδιο του ψευδαργύρου (ZnO) και Αλγινικό Νάτριο/Πολυβινυλική αλκοόλη:* Ο συνδυασμός αυτών των πολυμερών ενισχύει τις αντιβακτηριδιακές ιδιότητες των νανοϊνών Αλγινικού Νατρίου/Πολυβινυλικής αλκοόλης και τα καθιστά ιδιαίτερος κατάλληλα σε περιπτώσεις τραυμάτων με *Escherichia coli* και *Staphylococcus aureus* [98], [99]-[104] .

5.5. Ανοικτή μέθοδος

5.5.1. Άλλοι τρόποι αντιμετώπισης εγκαυμάτων μικρού βαθμού

Η άμεση αντιμετώπιση του εγκαύματος γρήγορα και με θεραπευτικά συστατικά είναι σημαντική για τη μείωση της βλάβης στο δέρμα και την προστασία του από περαιτέρω βλάβες (πχ εξέλιξη σε καρκίνο του δέρματος, μελάνωμα κλπ).

Άλλα σκευάσματα, εκτός από επιθέματα, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν, ως πρώτες βοήθειες, στην ανακούφιση και στην επούλωση ενός εγκαύματος, είναι τα παρακάτω [106]:

✓ Γέλη *Aloe Vera*

Το πήκτωμα αλόης για το ηλιακό έγκαυμα αποτελεί μια από τις πιο ευεργετικές επιλογές πρώτων βοηθειών. Έχει αντιβακτηριδιακές ιδιότητες και συμβάλει στη βαθιά επούλωση,

λόγω της αλοεκτίνης B (aloeectin B), η οποία διεγείρει το ανοσοποιητικό σύστημα. Η γέλη αλόης χρησιμοποιείται στα νοσοκομεία για τις περιπτώσεις εγκαύματος. Η γέλη αλόης προέρχεται από συμπίεση των φύλλων του φυτού *Aloe vera*, ενώ είναι διαθέσιμη και καθαρή πηκτή αλόης και στο εμπόριο [106].

✓ *Κρέμα βιταμίνης E*

Προϊόντα με αντιοξειδωτικά, όπως κρέμες, αλοιφές και έλαια βιταμίνης E μπορούν να θεραπεύσουν τη βλάβη από το ηλιακό έγκαυμα και να μειώσουν τις συνέπειές του [106].

✓ *Βιταμίνη C*

Αύξηση των επιπέδων της βιταμίνης C (αντιοξειδωτικό) σε έναν πάσχοντα από ηλιακό έγκαυμα οργανισμό μπορεί να επιταχύνει την ίαση [106].

✓ *Μαύρο τσάι*

Οι τανίνες από δροσερό μαύρο τσάι, μέσα από κομπρέσες ή εκχυλίσματα, δρουν αρκετά καταπραυντικά και βοηθούν το ηλιακό έγκαυμα να μαλακώσει [106].

✓ *Κρέμα με Καλέντουλα*

Η καλέντουλα είναι ένα από τα πιο θεραπευτικά φυτά. Τα άνθη της έχουν μαλακτικές, αντιβακτηριδιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντιμυκητιακές και αντικές ιδιότητες. Είναι διεγερτικά του ανοσοποιητικού συστήματος και πλούσια σε καροτενοειδή. Κρέμες και αλοιφές καλέντουλας διατίθενται σε ποικιλία στο εμπόριο [106].

✓ *Λουτρό με μαγειρική σόδα/Κομπρέσες*

Ένα δροσερό λουτρό στο οποίο έχει προστεθεί ένα φλιτζάνι μαγειρική σόδα μπορεί να ανακουφίσει από τη δυσάρεστη αίσθηση του εγκαύματος [82].

✓ *Λήψη υγρών/Ηλεκτρολυτών*

Είναι απαραίτητη η αναπλήρωση υγρών του οργανισμού, λόγω της απώλειάς σημαντικών ποσοτήτων μέσα από τα εγκαύματα, για τη διατήρηση της ενυδάτωσης και της θερμοκρασίας του οργανισμού [82].

✓ *Λήψη αναλγητικών/αντιφλεγμονωδών φαρμάκων*

Σε περίπτωση μη υποχώρησης των συμπτωμάτων και του έντονου αισθήματος πόνου, είναι δυνατή χρήση κάποιου αναλγητικού ή αντιφλεγμονώδους σκευάσματος [82].

ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ: Πρέπει να αποφευχθούν τα προϊόντα πετρελαίου και η βαζελίνη που μπορούν να παρατείνουν το αίσθημα καψίματος και να «εγκλωβίσουν» τη θερμότητα.

5.6. Πλεονεκτήματα Επιθεμάτων

Η χρήση των επιθεμάτων παρουσιάζει κάποια σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι άλλων συστημάτων αποδέσμευσης και φαρμακοτεχνικών μορφών [100]

Επειδή η ουσία απελευθερώνεται ομοιόμορφα και απευθείας στην κυκλοφορία του αίματος, μπορεί να απαιτείται λιγότερη ουσία.

5.6.1. Βελτίωση της συμμόρφωσης των ασθενών

Πολλοί ασθενείς αντιμετωπίζουν δυσκολία στην κατάποση (πχ αντιφλεγμονώδη δισκία) ενώ άλλοι έχουν επίσης πρόβλημα με τη λήψη φαρμάκων (ή τις επαλείψεις με κάποια κρέμα) ανά συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα (αν ξεχαστεί ή παραλειφθεί κάποια δόση, η θεραπεία δεν μπορεί πλέον να εξασφαλιστεί). Ένα επίθεμα μπορεί να αντικαταστήσει την ανάγκη λήψης πολλών δισκίων ή εφαρμογής επαλείψεων, με τυπικά διαστήματα θεραπείας μεταξύ 24 ωρών και επτά ημερών. Αντίθετα, τα συμβατικά συστήματα χορήγησης φαρμάκων όπως τα δισκία, οι κάψουλες ή οι αλοιφές, παρέχουν μόνο το φάρμακο που απαιτείται για μια πολύ περιορισμένη χρονική περίοδο (από μερικές ώρες μέχρι μία ημέρα κάθε φορά). Τα επιθέματα, ωστόσο, είναι ικανά να απελευθερώνουν το φάρμακο όπως απαιτείται όλη τη νύκτα, έτσι ώστε ο ύπνος του ασθενούς να μην διακόπτεται. Αντίθετα, μια αγωγή που συμπεριλαμβάνει τη συχνή επάλειψη μιας κρέμας ή αλοιφής, περιορίζει την καθημερινότητα του ασθενούς (πχ περιορισμός κινήσεων στον ύπνο, αποφυγή δραστηριοτήτων όπως το κολύμπι κλπ), καθώς το σημείο επάλειψης πρέπει πάντα να παραμένει ακέραιο και ανεπηρέαστο για να μπορεί να εξασφαλιστεί η δράση του φαρμάκου[100].

5.6.2. Σταθερά επίπεδα φαρμάκων

Όλα τα φάρμακα που χορηγούνται από το στόμα και στη συνέχεια περνούν μέσω του γαστρεντερικού σωλήνα πρέπει πρώτα να περάσουν από το ήπαρ. Ανάλογα με την εκάστοτε δραστική ουσία, μια σημαντική ποσότητα του φαρμάκου που λαμβάνεται μεταβολίζεται από το ήπαρ. Η υπόλοιπη ποσότητα του φαρμάκου μειώνεται συνεχώς ως αποτέλεσμα των μεταβολικών διεργασιών του οργανισμού. Συνεπώς, η ποσότητα φαρμάκου που είναι πραγματικά διαθέσιμη στο σώμα ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό, ενώ η μεγάλη ποσότητα φαρμάκου που λαμβάνεται μειώνεται στο τέλος του διαστήματος εφαρμογής. Αντίθετα, ένα

διαδερμικό επίθεμα εξασφαλίζει σταθερή δόση της δραστικής που χορηγείται. Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται μια ισορροπία μεταξύ της ποσότητας της ουσίας που απορροφάται από το έμπλαστρο και της ποσότητας που απαιτείται από το σώμα, δηλ. ο οργανισμός απορροφά όση ποσότητα χρειάζεται. Η συγκέντρωση της ουσίας στο σώμα είναι πάντα στο ιδανικό εύρος για το εν λόγω φάρμακο. [100]

5.6.3. Λιγότερες παρενέργειες

Πολλά φάρμακα δεν επιτυγχάνουν μόνο τα επιθυμητά αποτελέσματα αλλά έχουν και πολλές ανεπιθύμητες παρενέργειες. Οι ουσίες που χορηγούνται από το στόμα επιφέρουν γαστρεντερικές παρενέργειες, όπως ναυτία ή ζάλη, ενώ η τοπική χορήγηση μιας κρέμας προκαλεί ερεθισμό ή δυσφορία κατά την τυχαία επαφή με τα μάτια ή το στόμα (σάλιο). Συνεπώς, ο ασθενής όχι μόνο επηρεάζεται άμεσα, αλλά και η πρόθεσή του να ξεκινήσει ή να συνεχίσει τη θεραπεία μεταβάλλεται. Αντίθετα, η διαδερμική απορρόφηση μειώνει σημαντικά τις περισσότερες από αυτές τις παρενέργειες. Επιπλέον, η δράση πολλών ουσιών που λαμβάνονται από το στόμα επηρεάζεται εξαιτίας της «επίδρασης τροφίμων». Αυτό σημαίνει ότι η απορρόφησή τους από το σώμα επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από το εάν καταναλώνεται ή όχι τροφή ταυτόχρονα. Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα αλλαγές στα επίπεδα pH του σώματος. Συνεπώς, οι ασθενείς πρέπει πάντα να γνωρίζουν εάν το φάρμακο πρέπει να λαμβάνεται πριν ή μετά τα γεύματα. Όμως, δεδομένου ότι τα διαδερμικά επιθέματα επιτρέπουν στο σώμα να απορροφήσει απευθείας την ουσία, αυτό δεν είναι πλέον απαραίτητο. Τέλος, μία από τις πιο σοβαρές παρενέργειες που σχετίζεται με τη λήψη φαρμάκων είναι η ηπατική τοξικότητα δηλαδή η πιθανότητα η λήψη ορισμένων φαρμάκων να βλάψει το ήπαρ. Η χρήση των επιθεμάτων μπορεί επίσης να οδηγήσει σε σημαντική μείωση των παρενεργειών που σχετίζονται με την ηπατική βλάβη. [100]

5.6.4. Δυσκολία απορρόφησης από το γαστρεντερικό σωλήνα

Βασική προϋπόθεση για την από του στόματος χορήγηση φαρμάκων, είναι η στοματική βιοδιαθεσιμότητα της ουσίας. Εάν μια ουσία δεν μπορεί να εισέλθει στην κυκλοφορία του αίματος μέσω του γαστρεντερικού σωλήνα ή εάν μόνο μια περιορισμένη ποσότητα της ουσίας φτάσει στην κυκλοφορία του αίματος, αυτή δεν μπορεί να δράσει στο σώμα. Ως αποτέλεσμα, οι φαρμακευτικές εταιρείες έχουν προσπαθήσει να βελτιώσουν τη βιοδιαθεσιμότητα των φαρμάκων. Σε ορισμένες περιπτώσεις όμως αυτές οι προσπάθειες δεν είναι απαραίτητες. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα του φαρμάκου Neupro® που διατίθεται μόνο ως διαδερμικό επίθεμα και η δραστική του ουσία, η ροτιγοτίνη, έχει επιδείξει

εξαιρετική αποτελεσματικότητα στη θεραπεία της νόσου του Parkinson. Επειδή η ροτιγοτίνη δεν έχει ουσιαστικά βιοδιαθεσιμότητα όταν λαμβάνεται από το στόμα και δεν μπορεί να χορηγηθεί μέσω δισκίων ή κάψουλων. Συνεπώς, τα συγκεκριμένα επιθέματα όχι μόνο προσφέρουν μια πρακτική λύση στη θεραπεία της νόσου του Parkinson, αλλά καθιστούν για πρώτη φορά δυνατή και τη χρήση της ροτιγοτίνης για τη θεραπεία της. [100].

5.6.5. Μικρότερες ποσότητες της δραστικής ουσίας

Η περιορισμένη από του στόματος βιοδιαθεσιμότητα, ο μεταβολισμός του φαρμάκου από το ήπαρ μετά την από του στόματος χορήγηση καθώς και η πιθανότητα απώλειας ποσότητας της κρέμας μετά την επάλειψη οδηγούν τον ασθενή στο να χρειάζεται να πάρει σημαντικά περισσότερη ουσία από ό, τι πραγματικά απαιτείται για τη θεραπεία. Αντίθετα, με τη χρήση επιθεμάτων, στο σώμα εισέρχεται και αποδεσμεύεται μόνο η ποσότητα της δραστικής που απαιτείται για τη θεραπεία. [100].

Η παρούσα μελέτη αφορά στην προσπάθεια θεραπευτικής προσέγγισης των ηλιακών εγκαυμάτων με πολυμερικά επιθέματα, από βιοσυμβατά υλικά και φυσική δραστική ουσία πεύκου (*P.halepensis*), τα οποία παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο της ηλεκτροστατικής ινοποίησης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΒΙΟΣΥΜΒΑΤΑ ΚΑΙ ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΙΜΑ ΠΟΛΥΜΕΡΗ

6.1. Γενικά

Τα πολυμερή είναι ενώσεις των οποίων τα μόρια έχουν υψηλό μοριακό βάρος και αποτελούνται από ένα μεγάλο αριθμό επαναλαμβανόμενων μονάδων. Τα πολυμερή σχηματίζονται από χημικές αντιδράσεις (πολυμερισμός) στις οποίες ένας μεγάλος αριθμός μορίων, που ονομάζονται μονομερή, ενώνονται διαδοχικά, σχηματίζοντας μια αλυσίδα. Σε πολλά πολυμερή, χρησιμοποιείται μόνο ένα μονομερές. Σε άλλες περιπτώσεις, μπορούν να συνδυαστούν δύο ή τρία διαφορετικά μονομερή. Σε γενικές γραμμές, τα υλικά αυτά βρίσκουν εφαρμογές σε πολλούς τομείς, συμπεριλαμβανομένων βιοϊατρικών-φαρμακευτικών εφαρμογών [107,108].

Τα πολυμερή διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: στα *φυσικά* (πρωτεΐνες, πολυνουκλεοτίδια, πολυσακχαρίτες, κόμια, ρητίνες) και στα *συνθετικά* [1]. Πολυμερή που δύνανται να χρησιμοποιηθούν στην ιατρική, οδοντιατρική και φαρμακευτική και είτε έρχονται σε άμεση επαφή με ζωντανούς οργανισμούς, είτε υποβοηθούν βιολογικές εργασίες, επιλέγονται με βάση τα ακόλουθα κριτήρια [107]:

1. Είδος του πολυμερούς
2. Φυσικές, χημικές και μηχανικές ιδιότητες
3. Δυνατότητα εύκολης πειραματικής επεξεργασίας και ηλεκτροϊονοποίησης
4. Δυνατότητα αποστείρωσης
5. Βιολογικές αλληλεπιδράσεις - βιοσυμβατότητα
6. Βιοαποικοδομησιμότητα [107].

Σε αυτή την κατηγορία συγκαταλέγεται το αλγινικό νάτριο το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλές βιοϊατρικές εφαρμογές, λόγω της βιοσυμβατότητάς του, όπως στη μεταφορά και στην αποδέσμευση φαρμακευτικών μορίων [109] καθώς και η οξική κυτταρίνη που χρησιμοποιείται σε ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών, όπως σε φίλτρα και σε τεχνητά επουλωτικά ή προστατευτικά μέσα του ιστού ή του δέρματος [110].

Πολλά φυσικά και συνθετικά πολυμερή έχουν χρησιμοποιηθεί κατά κόρον στην παρασκευή πολλών καλλυντικών και φαρμακευτικώνσκευασμάτων, καθώς και στον εγκλεισμό εντός της πολυμερικής τους μήτρας διάφορων δραστικών ουσιών [111,112].

Κατά την τελευταία δεκαετία, τα βιοαποικοδομήσιμα και βιοσυμβατά πολυμερή έχουν προσελκύσει αρκετό ενδιαφέρον, επειδή είναι φιλικά προς το περιβάλλον και χρησιμοποιούνται εκτενώς σε ιατρικές εφαρμογές [113,112].

Ο όρος «βιοϋλικό» έχει συνδεθεί άμεσα με τον όρο «βιοσυμβατότητα» ο οποίος αναφέρεται στην ικανότητα του υλικού να ενσωματώνεται στον οργανισμό με τρόπο ελεγχόμενο και προβλέψιμο χωρίς να προκαλούνται παρενέργειες. Ο όρος «βιοσυμβατότητα» αναφέρεται στη συμβατότητα της επιφάνειας του υλικού με τον ιστό ξενιστή όσον αφορά στη χημική, βιολογική και φυσική καταλληλότητα του εμφυτεύματος για τον κάθε ιστό, προκειμένου να εξασφαλίζεται η λειτουργία βιοϋλικού και ζώντος οργανισμού [114].

Η καταλληλότερη αλληλεπίδραση βιοϋλικού και οργανισμού-ιστού επιτυγχάνεται όταν εξασφαλίζεται παράλληλα η συμβατότητα δομής (μηχανικές ιδιότητες) και επιφάνειας του υλικού (βιοσυμβατότητα) με τον ιστό τον οποίον πρόκειται να αντικαταστήσει ή να βελτιώσει τη λειτουργία του [114].

Τις τελευταίες δεκαετίες, έχει αξιοποιηθεί ευρέως ένας μεγάλος αριθμός πολυμερικών υλικών σε επιστήμες όπως η φαρμακευτική, η ιστομηχανική και η ιατρική, παρουσιάζοντας εντυπωσιακά αποτελέσματα [114]. Ιδιαίτερα, τα φυσικά πολυμερή συγκεντρώνουν έντονο ενδιαφέρον λόγω της άφθονης διαθεσιμότητας και της βιοαποικοδομησιμότητας τους. Η μετάβαση από μη βιοαποικοδομήσιμα σε βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή για εφαρμογές που απαιτούν ύπαρξη μη-μόνιμων υλικών (μοσχευμάτων) στο ανθρώπινο σώμα, μπορεί να θεωρηθεί ως ένα μεγάλο άλμα στην επιστήμη των βιοϋλικών [113,112].

6.2. Βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή

Ο όρος «βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή» χαρακτηρίζει εκείνα τα πολυμερή που μπορούν να αποικοδομούνται *in vitro* και *in vivo* είτε από προϊόντα που είναι φυσικοί μεταβολίτες του σώματος ή από προϊόντα τα οποία μπορούν να εξαλειφθούν πλήρως από το σώμα, με ή χωρίς περαιτέρω μεταβολικούς μετασχηματισμούς [113].

Η ανακάλυψη των βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών έχει επηρεάσει σημαντικά την ανάπτυξη και την ταχεία εξέλιξη των διαφόρων τεχνολογιών στη σύγχρονη ιατρική. Αυτά, κατά κύριο λόγο σήμερα, βρίσκουν εφαρμογές ως ράμματα, ικρίωματα για την αναγέννηση των ιστών, συγκολλητικές ουσίες ιστών, αιμοστατικά, προσωρινά μοσχεύματα για την πρόσφυση ιστού, καθώς και ως μέσα μεταφοράς και ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμακευτικών ουσιών (Drug Delivery Systems, DDS). Κάθε μία από αυτές τις εφαρμογές απαιτεί υλικά με μοναδικές φυσικές, χημικές, βιολογικές και μηχανικές ιδιότητες για την παροχή αποτελεσματικής

θεραπείας. Κατά συνέπεια, ένα ευρύ φάσμα από αποικοδομήσιμα πολυμερή, τόσο φυσικά όσο και συνθετικά, έχουν μελετηθεί για αυτές τις εφαρμογές. Μάλιστα, πρόσφατες πρόοδοι στη μοριακή και κυτταρική βιολογία, σε συνδυασμό με την ανάπτυξη νέων βιοτεχνολογικών φαρμάκων, έχουν καταστήσει αναγκαία την τροποποίηση των ήδη υφισταμένων πολυμερών ή τη σύνθεση νέων, για ειδικές εφαρμογές [113].

Τα βασικά *κριτήρια επιλογής* ενός βιοαποικοδομήσιμου πολυμερούς ως βιοϋλικού είναι:

- Η παραγωγή μη τοξικών προϊόντων αποικοδόμησης και
- Η συμβατότητα του ρυθμού αποικοδόμησης και των μηχανικών ιδιοτήτων του υλικού με την προοριζόμενη εφαρμογή [113].

Όπως είναι προφανές, τα *πλεονεκτήματα* των βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών, σε σύγκριση με τα βιοσταθερά πολυμερή, είναι ότι με την εμφύτευσή τους αποτρέπουν την ανάγκη για μια δεύτερη χειρουργική επέμβαση, καθώς επίσης και ότι εξασφαλίζουν μακροχρόνια βιοσυμβατότητα. Εκτός από αυτό, η βιοαποικοδόμηση μπορεί να προσφέρει και άλλα πλεονεκτήματα σε πολλές βραχυπρόθεσμες ιατρικές εφαρμογές. Για παράδειγμα, σε ορθοπεδικές εφαρμογές, τα μηχανικά μη-συμβατά μοσχεύματα όπως τα μεταλλικά μοσχεύματα, μπορούν μερικές φορές να οδηγήσουν στην καταστροφή του προστατευτικού κελύφους λόγω πίεσης, ενώ τα βιοδιασπώμενα μοσχεύματα μπορούν σταδιακά να μεταφέρουν το φορτίο προς τον αναγεννώμενο ιστό, καθώς διασπώνται. Παρομοίως, σε συστήματα μεταφοράς και αποδέσμευσης φαρμάκων, ο έλεγχος του ρυθμού απελευθέρωσης του φαρμάκου μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη μεταβολή του ρυθμού αποικοδόμησης του πολυμερούς [113].

Γενικά, τα βιοδιασπώμενα πολυμερή μπορούν να ταξινομηθούν σε φυσικά και συνθετικά, ανάλογα με την προέλευσή τους [113]:

6.2.1. Φυσικά Πολυμερή

Τα φυσικά πολυμερή μπορούν να θεωρηθούν ως η καταλληλότερη επιλογή σε βιοϊατρικές εφαρμογές λόγω της εξαιρετικής βιοσυμβατότητάς τους και εξαιτίας της συγγένειάς τους με το φυσικό εξωκυττάριο χώρο. Τα πολυμερή αυτά εμφανίζουν και πολλά άλλα πλεονεκτήματα όπως βιοδραστικότητα, ικανότητα να παρουσιάζουν θέσεις σύνδεσης υποδοχέα στα κύτταρα, ευαισθησία στην πρωτεολυτική αποικοδόμηση των κυττάρων και φυσική αναδιαμόρφωση. Ακόμη, έχουν αξιοσημείωτες μηχανικές ιδιότητες και είναι βιοαποικοδομήσιμα με ενζυματικούς ή υδρολυτικούς μηχανισμούς. Ο ρυθμός της *in vivo* αποικοδόμησης των ενζυματικά διασπώμενων πολυμερών, ωστόσο, ποικίλει σημαντικά με τη θέση εμφύτευσης, ανάλογα με τη διαθεσιμότητα και τη συγκέντρωση των ενζύμων. Η χημική τροποποίηση

αυτών των πολυμερών μπορεί επιπλέον να επηρεάσει σημαντικά τους ρυθμούς αποικοδόμησης [112].

Από την άλλη πλευρά, η εγγενής βιοδραστητικότητα αυτών των φυσικών πολυμερών παρουσιάζει και μειονεκτήματα τα οποία περιλαμβάνουν μια ισχυρή ανοσογόνο απόκριση που σχετίζεται με τα περισσότερα πολυμερή, καθώς και δυσκολίες που σχετίζονται με τον καθαρισμό τους και την πιθανότητα μετάδοσης ασθενειών [112]. Για το λόγο αυτό, τα υλικά αυτά δεν έχουν αξιοποιηθεί πλήρως σε βιοϊατρικό πεδίο λόγω κυρίως των εγγενών μειονεκτημάτων που σχετίζονται με ορισμένες από αυτές τις ιδιότητες, όπως ο κίνδυνος ιικής μόλυνσης, καθώς και η διακύμανση του πολυμερούς από παρτίδα σε παρτίδα [115].

Παρόλα αυτά, σε γενικές γραμμές και σε σύγκριση με τα συνθετικά πολυμερή, τα φυσικά πολυμερή εμφανίζουν καλύτερη βιοσυμβατότητα όταν χρησιμοποιούνται σε βιοϊατρικές εφαρμογές. Όλες οι κύριες κατηγορίες των βιοπολυμερών, αλλά κυρίως οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες έχουν χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή ικριωμάτων με ηλεκτροστατική ινοποίηση. Τα τελευταία χρόνια, έχουν μελετηθεί αρκετά πρωτεϊνικής φύσης ίνες, κυρίως από κολλαγόνο, ζελατίνη, ελαστίνη και μετάξι, ενώ πολυσακχαρίτες, όπως η χιτίνη και η κυτταρίνη, έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ήδη στο σχηματισμό ινωδών δομών με ηλεκτροϋίνοποίηση [116].

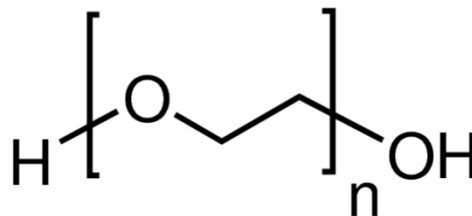
6.2.2. Συνθετικά πολυμερή

Τα συνθετικά βιοϋλικά μπορούν να προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τα φυσικά πολυμερή [113, 117-119]. Είναι γενικά μη τοξικές ενώσεις, οι ιδιότητές τους δεν εξαρτώνται από τον τρόπο παρασκευής τους, αλλά μόνο από χαρακτηριστικά όπως το μοριακό βάρος, ενώ δύναται να προσαρμοστούν οι ιδιότητές τους στις απαιτήσεις της εφαρμογής με αλλαγή των εν λόγω χαρακτηριστικών [112, 117-119]. Επιπλέον, ο λεπτομερής έλεγχος του ρυθμού αποικοδόμησης των πολυμερών αυτών, μπορεί να είναι εφικτός με μεταβολή της δομής τους [113]. Ακόμη, τα συνθετικά πολυμερή είναι φθηνότερα και αντιπροσωπεύουν μια πιο αξιόπιστη πηγή πρώτων υλών [120, 117-119].

Κάποια τυπικά συνθετικά πολυμερή που χρησιμοποιούνται σε βιοϊατρικές εφαρμογές είναι οι υδρόφοβοι βιοαποδομήσιμοι πολυεστέρες, όπως το πολυ (γλυκολικό οξύ) (PGA), το πολυ (γαλακτικό οξύ) (PLA) και η πολυ (ε-καπρολακτόνη) (PCL), τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή ινωδών ικριωμάτων. Πολλά άλλα υδρόφιλα βιοδιασπώμενα πολυμερή, όπως η πολυ (βινυλική αλκοόλη), το πολυ (αιθυλενοξειδίο) και οι πολυ (αιθυλενογλυκόλες) έχουν προταθεί για την παραγωγή ινωδών μεμβρανών, για βιοϊατρικές εφαρμογές, μέσω της ηλεκτροστατικής ινοποίησης [120, 117-119].

▪ Πολυαιθυλενοξείδιο (PEO)

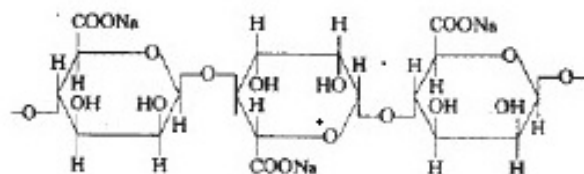
Το πολυαιθυλενοξείδιο (*Polyethylene Oxide*) είναι ένα μη τοξικό, υδρόφιλο, ημικρυσταλλικό, θερμοπλαστικό πολυμερές. Έχει ήδη βρει εφαρμογές στον τομέα της ιατρικής και της βιοϊατρικής, της μηχανικής ιστών, της αποθήκευσης ενέργειας ως ηλεκτρολύτης σε ηλεκτρολυτικά κελιά λιθίου. Έχει επίσης χρησιμοποιηθεί ως υδρογέλη, ως παράγοντας διασποράς, ως επιφανειοδραστικό, ως παράγοντας κροκίδωσης και ως τροποποιητής ρεολογίας. Ωστόσο, το καθαρό PEO εμφανίζει χαμηλές μηχανικές και θερμικές ιδιότητες και υψηλή κρυσταλλικότητα, γεγονός που το καθιστά ακατάλληλο για πολλές εφαρμογές. Οι θερμικές και μηχανικές του ιδιότητες μπορούν να βελτιωθούν με την ενσωμάτωση ενισχύσεων (πχ σε συνδυασμό με άλλα πολυμερή), διατηρώντας παράλληλα τις πλεονεκτικές ιδιότητές του, συμπεριλαμβανομένης της υψηλής βιοσυμβατότητας και της βιοαποικοδομησιμότητάς του. [121]



Εικόνα 10. Χημική δομή πολυαιθυλενοξειδίου [132].

▪ Αλγινικό Νάτριο (SA)

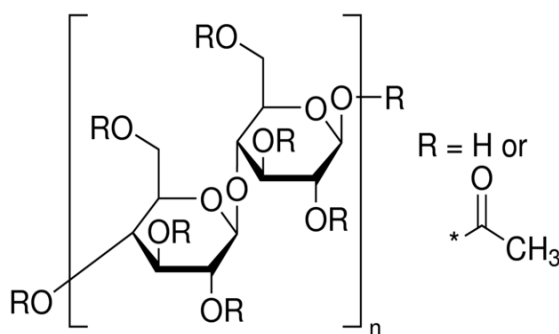
Το αλγινικό νάτριο (*Sodium Alginate*) είναι ένας φυσικός υδρόφιλος, μη τοξικός πολυσακχαρίτης που απαντάται στη φύση και βρίσκεται σε όλα τα είδη καφέ φυκιών [122,123,124]. Είναι ένα υδατοδιαλυτό, βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές που χρησιμοποιείται εκτεταμένα στη βιομηχανία επεξεργασίας τροφίμων, στην ιατρική και στη φαρμακευτική βιομηχανία, καθώς επίσης και σαν φορέας φαρμακευτικών μορίων [125,126]. Το SA βρίσκει ακόμα εφαρμογή στην μεταφορά δραστικών ουσιών [127,128] καθώς και στην παρασκευή σωματιδιακών συστημάτων νάνο κλίμακας παρατεταμένης αποδέσμευσης για μια ποικιλία φαρμάκων, πρωτεϊνών και κυττάρων [129,130] [131].



Εικόνα 11. Χημική δομή αλγινικού νατρίου [132]

▪ Οξική Κυτταρίνη (CA)

Η οξική κυτταρίνη (Cellulose acetate) είναι ένα από τα πιο σημαντικά παράγωγα της κυτταρίνης [114]. Έχει χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή νανοϊνών, οι οποίες βρίσκουν εφαρμογή ως ικρίωματα ιστομηχανικής και για τον εγκλεισμό διαφόρων φαρμακευτικών ουσιών με σκοπό την παραγωγή συστημάτων τοπικής/διαδερμικής μεταφοράς και αποδέσμευσης φαρμάκων [115]. Ακόμα, βρίσκει εφαρμογή σε ένα ευρύ φάσμα προϊόντων, από υψηλής απορροφητικότητας πάνες, υλικά συσκευασίας έως και μεμβράνες διαχωρισμού. Στον τομέα της βιοτεχνολογίας, οι νανοΐνες της οξικής κυτταρίνης, έχουν βρει εφαρμογές στην ιστομηχανική, σε βιο-αισθητήρες, στη μεταφορά δραστικών ουσιών, στην προστασία και στη βιολογική αποκατάσταση των καλλιεργειών, καθώς και στην ανάπτυξη καινοτόμων προϊόντων κλωστοϋφαντουργίας, όπως οι αντιμικροβιακοί τάπητες [114, 133-136].



Εικόνα 12. Χημική δομή οξικής κυτταρίνης [137].

Η οξική κυτταρίνη όταν υπόκειται σε ηλεκτροστατική ιονοποίηση εμφανίζει πολύ καλύτερη ικανότητα εγκλεισμού διάφορων φαρμακευτικών ουσιών, χρησιμοποιώντας λιγότερη ποσότητα από τη δραστική ουσία σε σύγκριση με τα συμβατικά σκευάσματα, γεγονός που

αποδίδει και οικονομικά οφέλη [138]. Επίσης, το συγκεκριμένο πολυμερές είναι βιοαποικοδομήσιμο και σε ινώδεις δομές έχει τη δυνατότητα μεταφοράς και ελεγχόμενης αποδέσμευσης των φαρμάκων στις περιοχές που στοχεύονται οδηγώντας έτσι το ενδιαφέρον της έρευνας στη δημιουργία συστημάτων οξικής κυτταρίνης ως συστήματα μεταφοράς φαρμάκων. Τα αποτελέσματα της χρήσης της σε τέτοια συστήματα μεταφοράς φαρμάκων ήταν άκρως ενθαρρυντικά και ορισμένα μειονεκτήματα της βιοδιαθεσιμότητας της οξικής κυτταρίνης όπως ο ηπατικός μεταβολισμός της, η αυξομείωσή της στο αίμα και οι παρενέργειες που επιφέρει από τη μη στοχευμένη αποδέσμευση του φαρμάκου, σταδιακά βελτιώνονται [139].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: *Pinus halepensis*

7.1. Προέλευση - Γενική περιγραφή

Το γένος *Pinus* ανήκει στην οικογένεια *Pinaceae* και περιλαμβάνει περίπου 250 είδη. Είναι το μεγαλύτερο γένος κωνοφόρων που απαντώνται φυσικά στο βόρειο ημισφαίριο, ιδίως στην περιοχή της Μεσογείου, της Καραϊβικής, στην Ασία, στην Ευρώπη και στη Βόρεια και την Κεντρική Αμερική [140]. Σύμφωνα με τις συνθήκες του τόπου, μπορούν να ζήσουν μέχρι 200 χρόνια, μεγαλώνουν μέχρι τα 25-30 μέτρα σε ύψος και φτάνουν σε περιφέρεια μεγαλύτερη των 3 μέτρων [141]. Στις παράκτιες περιοχές φτάνουν μέχρι και 600m υψόμετρο ενώ στο νότο (πχ Μαρόκο) μπορεί να βρεθούν σε υψόμετρα μέχρι και 2.600m. στα βουνά του Άτλαντα. Οι βέλτιστες κλιματολογικές συνθήκες για αυτό το είδος συμπεριλαμβάνουν ετήσιες βροχοπτώσεις 350-700 mm και ελάχιστες θερμοκρασίες μεταξύ -2 και 10 ° C.

Το είδος *Pinus halepensis* ευδοκimeί κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου. Το είδος αυτό είναι θερμοφιλό, ανθεκτικό στην ξηρασία και πιθανώς ένα από τα πιο ανεκτικά πεύκα σε υψηλές θερμοκρασίες και ξηρασία και αναπτύσσεται κυρίως σε ασβεστολιθικά εδάφη [140]. Τα δέντρα του είδους είναι αειθαλή και ρητινώδη. Το ύψος τους κυμαίνεται από 3 έως 80 m και το φύλλωμά τους αποτελείται από γκριζο-πράσινες βελόνες που αναπτύσσονται σε ζεύγη [141].

7.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά της Χαλέπειου πεύκης (Aleppo pine, *Pinus halepensis*)

- **Ο φλοιός**, στα νεαρά δέντρα είναι λείος και ανοιχτός γκρι και αργότερα γίνεται καφέ και με σχισμές.
- **Τα κλαδιά** τους, απλώνονται.
- **Οι βλαστοί**, έχουν διάμετρο 2-3mm και χρώμα γκρι.
- **Οι κάλυκες των άνθων** (μπουμπούκια) τους, είναι ωοειδή, με μήκος 5-10 cm, μη ρητινώδη.
- **Οι βελόνες**, είναι λεπτές, κιτρινοπράσινες με μήκος 6-10 cm στην κορυφή του βλαστού σε τούφες που μοιάζουν με βούρτσα.
- **Τα άνθη** τους, εμφανίζονται τον Απρίλιο-Μάιο.
- **Οι κώνοι** τους, είναι ωοειδείς, με παχείς και μέχρι και 2 cm μίσχους, περισσότερο ή λιγότερο γυρισμένους, κατά μήκος του κλάδου ή προς τα κάτω. Οι κώνοι είναι μοναχικοί ή μέχρι 3, σπάνια 4 σε μια σπείρα, έχουν μήκος 6-10 cm, πλάτος έως 4 cm και χρώματος γκρι έως κόκκινο-καφέ. Η ωρίμανση τους πραγματοποιείται το Σεπτέμβριο-Οκτώβριο της 2ης

περιόδου. Οι κώνοι ανοίγουν κυρίως στο 3ο και 4ο έτος υπό την επίδραση των κλιματικών συνθηκών (ζεστό και ξηρό κλίμα) και απορρίπτουν αφθονία σπόρων (~ 70 σπόροι ανά κώνο). Μετά την απελευθέρωση των σπόρων, οι άδαιοι κώνοι παραμένουν στο δέντρο για πολλά χρόνια και γίνονται επικίνδυνοι για εκδήλωση δασικής πυρκαγιάς.

- **Οι σπόροι**, είναι σκούροι καφέ, έχουν μήκος 6-7 mm, με σκούρα στίγματα και πτερύγια μήκους 18-28 mm. [140]



Εικόνα 13: Εικόνα των μορφολογικών χαρακτηριστικών του πεύκου. [140]

7.3. Θεραπευτική χρήση της Χαλέπειου πεύκης (*Pinus halepensis* Mill.)

Οι φαρμακευτικές και αρωματικές ιδιότητες των χημικών ενώσεων αυτού του είδους πεύκου (πχ τερεβινθίνη, ρητίνες και αιθέριο έλαιο) το καθιστούν ένα από τα πιο δημοφιλή δένδρα σε όλο τον κόσμο [141]. Από την αρχαιότητα έως τη σύγχρονη εποχή, οι θεραπευτικές χημικές ενώσεις (π.χ. τερεβινθέλαιο) που παράγονται από τη Χαλέπειο πεύκη, χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση πολλών ασθενειών όπως περιγράφονται από τον Ιπποκράτη, τον Διοσκουρίδη, τον Μαϊμωνίδη και άλλους. Σε αυτές συμπεριλαμβάνονται: η ρινική αποσυμφόρηση, ο λήθαργος, η κατάθλιψη, η πλευρίτιδα, οι εσωτερικές αιμορραγίες, η επούλωση εξωτερικών πληγών (χρήση ως αιμοστατικός παράγοντας), ασθένειες της αναπνευστικής οδού (όπως η καταρροή, το κοινό κρυολόγημα ακόμα και η φυματίωση), προβλήματα στα δόντια (πονόδοντοι), οι πληγές καθώς και η πρόληψη και η θεραπεία του διαβήτη [140]. Επίσης, ο Μαϊμωνίδης στα βιβλία του αναφέρεται στη χρήση του *P. halepensis* ως χημειοθεραπευτικό παράγοντα μολυσματικών ασθενειών το δωδέκατο αιώνα, στη Μεσόγειο [140]. Ακόμη, σύμφωνα με τον Barceloux (2008), το έλαιο της τερεβινθίνης, ουσίας που εξάγεται από ρητίνη του πεύκου, χρησιμοποιήθηκε από την αρχαιότητα ως

φυτική θεραπεία για πληθώρα ασθενειών. Ο Ιπποκράτης (370-460 π.Χ.) ανέφερε την αξία του τερεβινθέλαιου στην εμμηνόπαυση και στην αναστολή της ρινικής εκκρίσεως. Ο Έλληνας γιατρός Διοσκουρίδης χρησιμοποίησε το τερεβινθέλαιο ως αφροδισιακό παράγοντα ενώ οι Ρωμαίοι χρησιμοποίησαν αυτό το έλαιο σε μια μεγάλη ποικιλία εσωτερικών και εξωτερικών ασθενειών συμπεριλαμβανομένων των εγκεφαλικών επεισοδίων, των ρευματικών παθήσεων, των παθήσεων των νεφρών και της ουροδόχου κύστης.[140] Είναι ακόμη γνωστό για την αντισηπτική, αντιμυκητιακή και αντιφλεγμονώδη δράση του σε ποικίλες δερματικές διαταραχές (πληγές, εγκαύματα κ.λπ.) καθώς και για την αντιβακτηριακή δράση του έναντι στελεχών *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* και *Bacillus cereus*. [140]

Τέλος , αξίζει να αναφερθεί ότι το *P. halepensis* παρουσιάζει σημαντικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες καθώς και υψηλά επίπεδα βιοδραστικών ενώσεων. Έτσι, το πεύκο είναι σημαντική πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών που μπορούν να προσφέρουν πολλά οφέλη για την υγεία. [142]

Για φαρμακευτικούς σκοπούς χρησιμοποιούνται όλα τα φυτικά μέρη της πεύκης (ο φλοιός, η ρητίνη από το ξύλο, οι βελόνες και οι βλαστοί) όπως επίσης και σε διάφορες μορφές όπως τα αιθέρια έλαια, τα αφεψήματα και τα εισπνεόμενα, ανάλογα πάντα με την πάθηση και την απαραίτητη θεραπεία. [140]

Σήμερα, το πεύκο εξακολουθεί να χρησιμοποιείται ευρέως στην παραδοσιακή θεραπευτική πρακτική σε αρκετές περιοχές ανα τον κόσμο έχοντας παράλληλα και μεγάλη οικονομική σημασία [141].

Στην Ελλάδα το *P. halepensis* εμφανίζεται κυρίως στην Πελοπόννησο, την Αττική, την Εύβοια και τη Χαλκιδική. [140]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΗΛΕΚΤΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΤΗΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ

8.1. Ηλεκτροστατική Ινοποίηση

Η ηλεκτροστατική ινοποίηση είναι η κυριότερη μέθοδος παραγωγής μικρο/νάνο-ινωδών πολυμερικών δομών [143]. Οι ίνες αυτές σχηματίζονται μέσω της έγχυσης ενός πολυμερικού διαλύματος ή τήγματος πολυμερούς, η οποία πραγματοποιείται υπό την επίδραση υψηλής τάσης (10–25 kV). Καθώς οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις υπερνικούν την επιφανειακή τάση του πολυμερικού διαλύματος, σχηματίζεται ένας κώνος Taylor και ένας λεπτός πίδακας εκτοξεύεται σε γειωμένο ή αντίθετα φορτισμένο συλλέκτη. [143]. Καθώς η δέσμη ταξιδεύει στον αέρα, ο διαλύτης εξατμίζεται, αφήνοντας πίσω μια φορτισμένη πολυμερική ίνα η οποία συνεχίζει να επιμηκύνεται μέχρι το συλλέκτη [143].

Η τεχνική της ηλεκτροστατικής ινοποίησης είναι πολύ ευέλικτη και μπορεί να παρασκευάσει μια τεράστια γκάμα από ίνες ποικίλων διαμέτρων οι οποίες κυμαίνονται από αρκετά νανόμετρα έως λίγα μικρόμετρα, μέσα από μια ποικιλία πολυμερών και συμπολυμερών. Ακόμη, πολλοί διαφορετικοί τύποι μορίων μπορούν να ενσωματωθούν εύκολα στις ίνες, κατά την ηλεκτροίνοποίηση, ώστε να παραχθούν λειτουργικές νανοΐνες. Αυτές οι πολυμερικές νανοΐνες συλλέγονται συνήθως από πίδακες τυχαίας ή ομοαξονικής ευθυγραμμισμένης κατεύθυνσης [143].

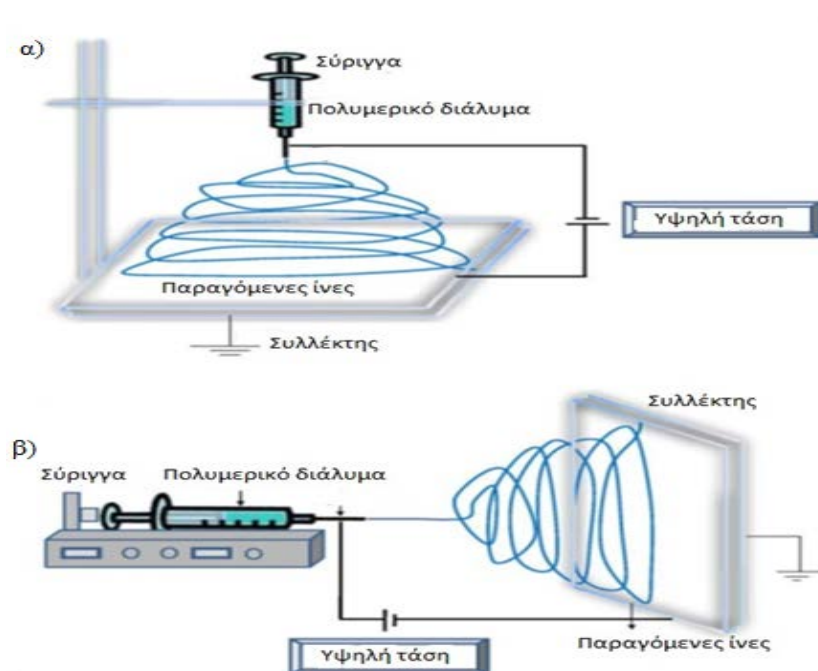
Η συγκεκριμένη τεχνική βρίσκει ποικίλες εφαρμογές σε πολλούς τομείς, λόγω της ικανότητάς της να παράγει ίνες κλίμακας νανο-μεγέθους με υψηλό λόγο επιφανείας προς όγκο, της τεχνικής της απλότητας και του χαμηλού της κόστους [143, 144]. Από τότε που πρωτοεφευρέθηκε από τον Formhals το 1934, η ηλεκτροστατική ινοποίηση, έχει χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία κλωστοϋφαντουργικών προϊόντων, στο φιλτράρισμα του αέρα καθώς και σε τομείς της βιοϊατρικής, όπως στην επούλωση τραυμάτων και σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων. Επίσης, έχει αποτελέσει ισχυρό εργαλείο για την παραγωγή ινωδών ικριωμάτων από βιοϋλικά, σε εφαρμογές της ιστομηχανικής [145].

Αυτή η τεχνική διαθέτει ένα σημαντικό πλεονέκτημα έναντι άλλων τεχνικών καθώς έχει την ικανότητα να παράγει ίνες οι οποίες είναι είτε τυχαία προσανατολισμένες, είτε παράλληλα ευθυγραμμισμένες. [145]. Ένα ακόμη πλεονέκτημα αυτής της τεχνικής είναι το γεγονός ότι μπορεί να παράγει ίνες που μιμούνται τη φυσική αρχιτεκτονική πολλών τύπων ιστών, όπως των νευρικών, των μυοσκελετικών, των δερματικών και των αγγειακών, στους οποίους η κατεύθυνση της ανάπτυξης του ιστού είναι ζωτικής σημασίας για τον καθορισμό της

κατάλληλης φυσιολογικής λειτουργίας του κάθε οργάνου. Για παράδειγμα, έχει επιτευχθεί η ηλεκτροϊνοποίηση ικριωμάτων ινοδομών νανο-κλίμακας από πολυ (L-γαλακτικό οξύ) (PLLA) τα οποία παρουσιάζουν σημαντικές δομικές ομοιότητες με την αρχιτεκτονική του φυσικού ανθρώπινου υαλώδη χόνδρου [145].

Αξίζει να σημειωθεί ότι, η ηλεκτροστατική ινοποίηση συνεχίζει να επιδέχεται βελτιστοποιήσεων λόγω των μειονεκτημάτων που παρουσιάζει ως προς την ανομοιομορφία των παραγόμενων ινών και των φτωχών μηχανικών ιδιοτήτων που διαθέτουν οι παραγόμενες μεμβράνες και οι οποίες προκαλούν ανησυχίες για ενδεχόμενες παρενέργειες κατά την εφαρμογή τους [144].

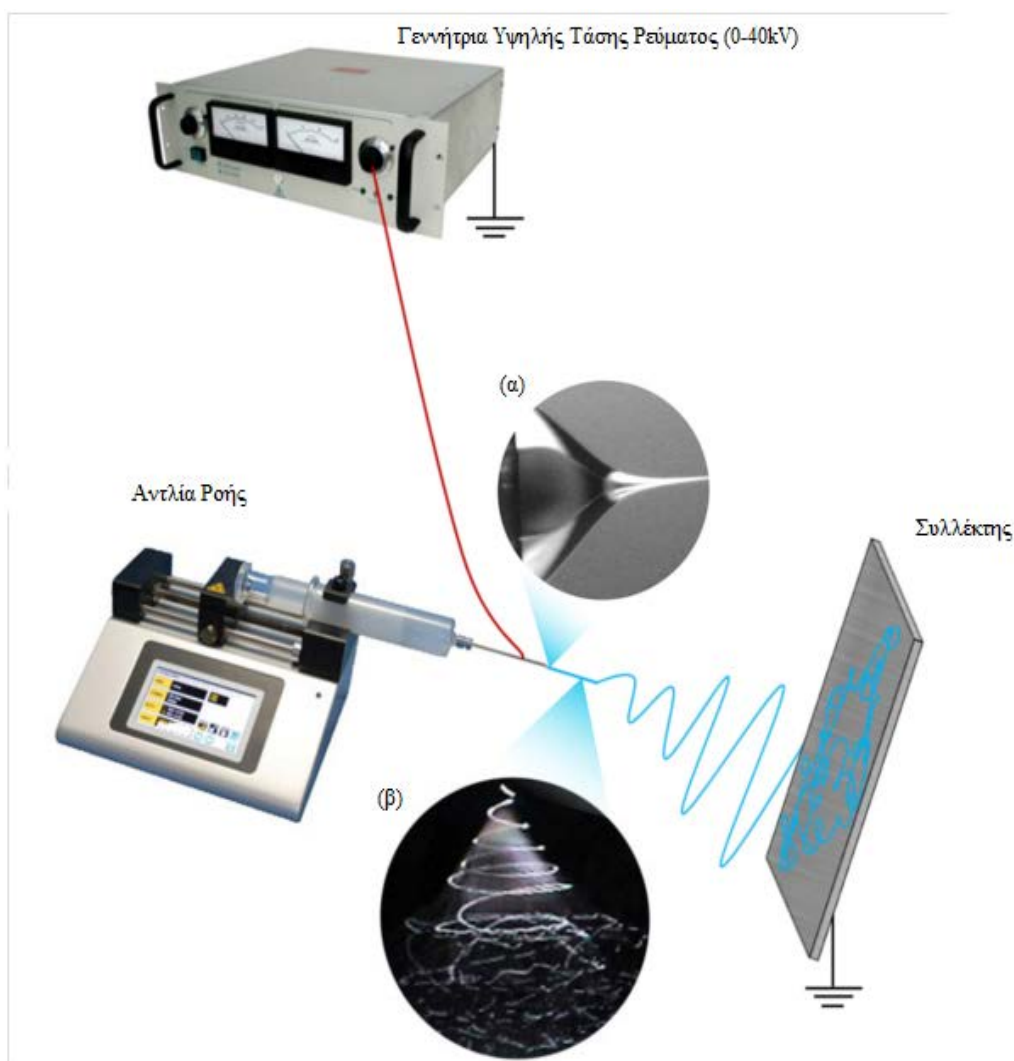
Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες διατάξεις ηλεκτροστατικής ινοποίησης είναι η κατακόρυφη και η οριζόντια που παρουσιάζονται στην εικόνα 14. Με την πάροδο των χρόνων όμως και την εξέλιξη της επιστήμης έχουν ήδη αρχίσει να εμφανίζονται νέες τεχνικές που αφορούν στη χρήση περισσότερων και πιο πολύπλοκων διατάξεων όπως η παράλληλη ηλεκτροϊνοποίηση καθώς και διαφορετικών συνθηκών λειτουργίας με στόχο τη σύνθεση αποδοτικότερων και πιο σύνθετων ικριωμάτων [146,147,148, 149-153].



Εικόνα 14. Σχηματική αναπαράσταση α) κάθετης και β) οριζόντιας διάταξης ηλεκτροστατικής ινοποίησης [154].

Η ηλεκτροστατική ινοποίηση αποτελεί τη μόνη μέθοδο που επιτρέπει την παρασκευή συνεχών ινών με διάμετρο λίγων νανομέτρων και είναι εφαρμόσιμη σε ένα ευρύ φάσμα πολυμερών, είτε φυσικών είτε συνθετικών, σε πολυμερικά μίγματα καθώς και σε πολυμερή με εγκλεισμένα νανοσωματίδια, ή δραστικά βιομόρια [155].

Μια τυπική διάταξη ηλεκτροϊνοποίησης αποτελείται συνήθως από έναν τριχοειδή σωλήνα (π.χ. βελόνα) μέσω του οποίου το πολυμερικό διάλυμα αναγκάζεται να ρέει, μια πηγή υψηλής τάσης με θετική ή αρνητική πολικότητα, που προσδίδει φορτίο στο υγρό, μια αντλία και ένα γειωμένο συλλέκτη [155].



Εικόνα 15. Σχηματική αναπαράσταση διάταξης ηλεκτροστατικής ινοποίησης [156].

Οι παράμετροι που επηρεάζουν την ηλεκτροστατική ινοποίηση καθώς και τη μορφολογία των ινών, παρατίθενται στον πίνακα 2 και μπορούν να καταταχθούν σε [155]:

- ✓ παραμέτρους της διεργασίας
- ✓ παραμέτρους διαλύματος

- ✓ συνθήκες περιβάλλοντος

Με την κατανόηση αυτών των παραμέτρων, είναι δυνατό να προκύψουν δομές με ποικίλες μορφές και διαμέτρους [155].

Πίνακας 2. Παράμετροι της διαδικασίας που επηρεάζουν τη μορφολογία των παραγόμενων ινών [157].

Πολυμερές	Διάλυμα	Διαδικασία
Μοριακό βάρος	Είδος διαλύτη	Εφαρμοζόμενη τάση πεδίου
Δείκτης πολυδιασποράς	Συγκέντρωση	Απόσταση από το συλλέκτη
Θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης	Ιξώδες	Ρυθμός ροής
	Ηλεκτρική αγωγιμότητα	Χρόνος εναπόθεσης
	Επιφανειακή τάση	Ρυθμός εξάτμισης διαλύτη
	Πρόσθετα	Διάμετρος του τριχοειδούς ακροφυσίου
	Θερμοκρασία	Τεχνική συλλογής

8.2. Παράμετροι της διεργασίας

Παρά το γεγονός ότι η ηλεκτροϊονοποίηση είναι μία σχετικά εύκολη μέθοδος, υπάρχει μια σειρά παραμέτρων που μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά το σχηματισμό και τη δομή των ινών [155]. Τοποθετημένες κατά τη σειρά με την οποία επιδρούν περισσότερο στη διαδικασία ηλεκτροϊονοποίησης, αυτές οι παράμετροι είναι αντίστοιχα η εφαρμοσμένη τάση, ο ρυθμός ροής του πολυμερούς, η απόσταση τριχοειδούς σωλήνα (βελόνα)-συλλέκτη, ο συλλέκτης των ινωδών δομών, η διάμετρος του ακροφυσίου και η θερμοκρασία. Αξίζει να σημειωθεί ότι, όλες αυτές οι παράμετροι μπορούν να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό το σχηματισμό θρόμβων και (χαντρών) στις ινώδεις δομές [155].

8.2.1. Εφαρμοζόμενη τάση

Η ισχύς του εφαρμοζόμενου ηλεκτρικού πεδίου επηρεάζει το μέγεθος των σχηματιζόμενων ινών (οι οποίες δύναται να έχουν διαμέτρους από μερικά μικρόμετρα έως δεκάδες νανόμετρα). Η μη βέλτιστη διαφορά δυναμικού οδηγεί σε σχηματισμό θρόμβων πάνω στις παραγόμενες ίνες ή ακόμη και σε αποτυχία μετατροπής του εγχύματος σε ίνες. Στη χαμηλότερη τάση που είναι απαραίτητη για το σχηματισμό του πίδακα, εμφανίζεται στην άκρη της βελόνας μία κωνική σταγόνα, γνωστή ως κώνος Taylor [158,155].

Μελέτες έχουν δείξει ότι η εφαρμοζόμενη τάση έχει επίδραση στη μέση διάμετρο των ινών. Η τελευταία αυξάνεται με τη μείωση της τάσης άρα, όταν εφαρμόζεται υψηλότερη τάση, παράγονται ίνες μικρότερης διαμέτρου, στις περισσότερες των περιπτώσεων [159,160,161,162].

8.2.2. Ρυθμός ροής

Ο ρυθμός ροής καθορίζει την ποσότητα του πολυμερικού διαλύματος που πρόκειται να ηλεκτροϊονοποιηθεί. Συγκεκριμένα, όταν ο ρυθμός ροής αυξάνεται, υπάρχει μια αντίστοιχη αύξηση στη διάμετρο των ινών ή στο μέγεθος των θρόμβων που εμφανίζονται στις ινώδεις δομές. Αξίζει να σημειωθεί, ότι για μια δεδομένη τάση, υπάρχει συνήθως ένας αντίστοιχος ρυθμός ροής, για τη διατήρηση ενός σταθερού κώνου Taylor [163, 164,165,166].

8.2.3. Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα-συλλέκτη

Η απόσταση μεταξύ της άκρης του τριχοειδούς σωλήνα και του συλλέκτη παίζει ρόλο στη μορφολογία των παραγόμενων δομών, ωστόσο μπορεί κι αυτή να επηρεάσει σημαντικά το μέγεθος των ινών [155]. Συγκεκριμένα, η μικρή απόσταση μπορεί να οδηγήσει σε παραγωγή υγρών ινών ή υγρών σταγόνων που προσκρούουν στην επιφάνεια του συλλέκτη. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μερική ή και ολική συνένωση των ινών (σχηματισμός μεμβράνης) [155].

Αντιθέτως, σε πιο μακρινή απόσταση, ο διαλύτης μπορεί να εξατμιστεί πλήρως και, κατά συνέπεια, οι ίνες που λαμβάνονται να έχουν ομοιόμορφη δομή. Ωστόσο, καθώς αυξάνεται η απόσταση, απαιτείται μεγαλύτερη ηλεκτρική τάση προκειμένου να δημιουργηθεί σταθερή ροή και αυτό μπορεί να επηρεάσει την μορφολογία των ινών [167,157]. Στις δύο ακραίες περιπτώσεις, δηλαδή είτε σε πολύ κοντινή, είτε σε πολύ μακρινή απόσταση, οι ινώδεις δομές που παράγονται συνήθως φέρουν θρόμβους και ποικίλουν σε μέγεθος και μορφολογία [168,169,170].

8.3. Παράμετροι διαλύματος

Εκτός από τις παραμέτρους της διεργασίας και τα χαρακτηριστικά του διαλύματος επηρεάζουν το σχηματισμό των ινών και τη δομή τους [155]. Αυτές οι παράμετροι περιλαμβάνουν τη συγκέντρωση του πολυμερούς, την πτητικότητα του διαλύτη, την αγωγιμότητα του διαλύματος, την επιφανειακή του τάση, το μοριακό βάρος του πολυμερούς και το ιξώδες του διαλύματος [155].

8.3.1. Η συγκέντρωση του πολυμερούς

Η συγκέντρωση του πολυμερούς στο διάλυμα συχνά καθορίζει εάν αυτό μπορεί να υποστεί ηλεκτροστατική ινοποίηση ή όχι, και γενικά έχει μια σημαντική επίδραση στην διάμετρο των ινών, καθώς και στη μορφολογία τους [155]. Για παράδειγμα, όταν η συγκέντρωση είναι μικρότερη από μια κρίσιμη τιμή, η εκτόξευση υγρού «σπάει» σε σταγονίδια ενώ όταν αυξάνεται, πάνω από αυτήν την τιμή, η μέση διάμετρος της ίνας αυξάνεται [153]. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε σε πολλές μελέτες και αποδίδεται στο *izώδες* του διαλύματος, το οποίο είναι ανάλογο προς την συγκέντρωσή του [153]. Συγκεκριμένα, πιο παχύρρευστα/πυκνά διαλύματα μπορούν να δίνουν ίνες με μεγαλύτερες διαμέτρους, ενώ λιγότερο παχύρρευστα/πυκνά διαλύματα μπορούν να δίνουν λεπτότερες ίνες [152]. Αντίθετα, τα πολύ αραιά διαλύματα (χαμηλό *izώδες*) συνήθως οδηγούν σε σχηματισμό θρόμβων ή σταγονιδίων, στις παραγόμενες δομές [152,160-162].

Ακόμη, στην ίδια κατηγορία παραμέτρων με τη συγκέντρωση και το *izώδες*, μπορούν να συμπεριληφθούν το *μοριακό βάρος* του πολυμερούς και η *επιφανειακή τάση* του διαλύματος. Εν συντομία, η αύξηση του και μείωση της επιφανειακής τάσης οδηγεί σε μείωση της πιθανότητας σχηματισμού θρόμβων/σταγόνων στην επιφάνεια των παραγόμενων ινών [88-90,92-94].

8.3.2. Πτητικότητα διαλύτη

Η πλήρης εξάτμιση του διαλύτη από τον πίδακα που εκτοξεύεται και διαμορφώνει την κάθε πολυμερική ίνα, αποτελεί μια εξίσου σημαντική παράμετρο. Εάν ο διαλύτης δεν εξατμιστεί πλήρως, οι ίνες παραμένουν υγρές μπορούν να ενωθούν μεταξύ τους για να σχηματίσουν μια πιο συμπαγή μεμβράνη [155].

8.3.3. Αγωγιμότητα διαλύματος

Η αγωγιμότητα του διαλύματος αποτελεί ακόμη μία σημαντική παράμετρο για τον προσδιορισμό του μεγέθους και της μορφολογίας των ινών της ηλεκτροστατικής ινοποίησης. Έχει αποδειχθεί ότι ένα διάλυμα μεγάλης αγωγιμότητας μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερη ομοιομορφία μεταξύ των ινών. Η αγωγιμότητα του διαλύματος έχει επίσης συνδεθεί με το μέγεθος των ινών. Γενικά, η αύξηση της αγωγιμότητας του διαλύματος αποδίδει μικρότερης διαμέτρου ίνες, ωστόσο αυτό εξαρτάται από τις ιδιότητες του διαλύτη και του πολυμερούς. Το αντίθετο έχει παρατηρηθεί επίσης σε συγκεκριμένους συνδυασμούς διαλυτών/πολυμερών [167,171,172,173].

8.4. Περιβαλλοντικές παράμετροι

Η επίδραση των συνθηκών κατά την ηλεκτροστατική ινοποίηση, είναι ακόμη ένας τομέας που επηρεάζει την ηλεκτροστατική ινοποίηση. Κάθε αλληλεπίδραση μεταξύ του περιβάλλοντος και του διαλύματος του πολυμερούς μπορεί να έχει επίδραση στην μορφολογία των παραγόμενων δομών [155, 174,175,176,177].

Οι περιβαλλοντικές παράμετροι περιλαμβάνουν την υγρασία, τη θερμοκρασία και την πίεση της ατμόσφαιρας. Για παράδειγμα, τα υψηλά ποσοστά υγρασίας βρέθηκε ότι προκαλούν το σχηματισμό πόρων στην επιφάνεια των ινών ενώ η αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί στο σχηματισμό ινών με μικρότερη διάμετρο[155,174,175,176,177].

Δεδομένου ότι η ηλεκτροϊνοποίηση επηρεάζεται από το εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο, τυχόν αλλαγές στο περιβάλλον της κατά τη διάρκεια της επηρεάζουν και τη διεργασία [149, 174,175,176,177. Μολονότι οι επιπτώσεις των βασικών παραμέτρων της ηλεκτροστατικής ινοποίησης, όπως η ηλεκτρική τάση, η συγκέντρωση του διαλύματος και η απόσταση εναπόθεσης έχουν μελετηθεί εκτενώς, πολλοί από τους βασικούς μηχανισμούς που ελέγχουν τον σχηματισμό της δομής δεν έχουν κατανοηθεί ακόμα. Δεδομένου ότι η τεχνική της ηλεκτροστατικής ινοποίησης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή νέων δομών, οι οποίες με τη σειρά τους χρησιμοποιούνται σε ποικίλες εφαρμογές, είναι επιτακτική η ανάγκη να εξεταστούν προσεκτικά οι διάφοροι παράγοντες που συνδέονται με το σχηματισμό των ινωδών δομών [155].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΝΑΝΟΪΝΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΑΛΛΩΝ ΕΠΙΘΕΜΑΤΩΝ

9.1. Χαρακτηριστικά των Ηλεκτροϊνοποιημένων Ινών

Η εμπορική διάθεση επιθεμάτων από ποικίλα υλικά για την αντιμετώπιση διάφορων παθήσεων είναι αρκετά διαδεδομένη στις μέρες μας. Η χρήση τους διαφέρει ανάλογα με τη σοβαρότητα των περιπτώσεων στις οποίες χρησιμοποιούνται, τα υλικά από τα οποία αποτελούνται καθώς και από τις ιδιότητες τους.

Οι νανοΐνες μπορούν να παρασκευαστούν με διάφορες τεχνικές. Ωστόσο, η ηλεκτροστατική ινοποίηση είναι η μέθοδος που χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον για τη σύνθεση πολυμερικών νανοϊνών [178]. Τα πολυμερικά επιθέματα που συντίθενται από ηλεκτροστατική ινοποίηση παρουσιάζουν αρκετά πλεονεκτήματα στη χρήση τους για τη στοχευμένη θεραπεία πληγών και χρόνιων παθήσεων του δέρματος όπως η φλεγμονή, χάρη σε κάποιες σημαντικές ιδιότητες που διαθέτουν.

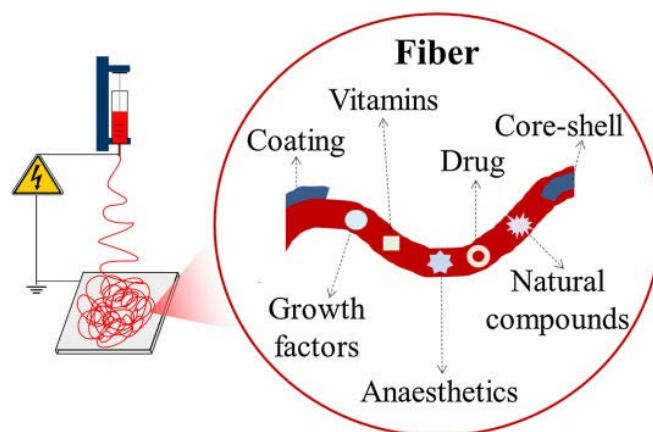
Συγκεκριμένα, οι νανοΐνες των πολυμερών που τα αποτελούν διαθέτουν μοναδικά χαρακτηριστικά, όπως:

- ✓ Διάμετρο της τάξης μερικών νανομέτρων έως πάνω από 1 μm (τυπικά 50-500nm)
- ✓ Εξαιρετικά μεγάλη επιφάνεια ανά μονάδα μάζας (για παράδειγμα, νανοΐνες με διάμετρο 100 nm έχουν ειδική επιφάνεια $\sim 1000 \text{ m}^2 / \text{g}$)
- ✓ Ενεργοποίηση επιφανείας (Surface functionalization)
- ✓ Υψηλό πορώδες (60-90%)
- ✓ Διασυνδεδεμένο νανο-πορώδες δίκτυο
- ✓ Εξαιρετικές δομικές και μηχανικές ιδιότητες
- ✓ Υψηλή αξονική αντοχή σε συνδυασμό με εξαιρετική ευελιξία
- ✓ Χαμηλό βάρος βάσης
- ✓ Χαμηλό κόστος (σε σχέση με άλλες μεθόδους παραγωγής επιθεμάτων και άλλα υλικά)
- ✓ Ομοιότητα με το φυσικό δέρμα
- ✓ Μίμηση της φυσικής δομής της φυσικής εξωκυτταρικής μήτρας
- ✓ Κυτταρική αναπνοή
- ✓ Προώθηση αιμόστασης
- ✓ Διαπερατότητα από αέρα
- ✓ Πρόληψη αφυδάτωσης τραύματος

✓ Πρόληψη από τη μικροβιακή διήθηση

Μια άλλη ενδιαφέρουσα πτυχή της χρήσης νανοϊνών είναι ότι είναι εφικτή η τροποποίηση όχι μόνο της μορφολογίας τους αλλά και του εσωτερικού τους όγκου (του περιεχομένου τους) αλλά και της επιφανειακής τους δομής.

Αυτές οι εξαιρετικές ιδιότητες καθιστούν τις πολυμερικές νανοΐνες χρήσιμες για την ανάπτυξη συστημάτων DDS (Drugs Delivery Systems). [179] Μάλιστα, έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί ως φορείς για την τοπική χορήγηση φαρμάκων λόγω της ευκολίας της ενθλάκωσης χημικών και βιολογικών μορίων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ηλεκτροσυσσωμάτωσης. Συγκεκριμένα, σε εφαρμογές ηλεκτροινοποιημένων νανοϊνών στην αναγεννητική ιατρική και σε επιδέσμους τραυμάτων, συχνά οι θεραπευτικοί παράγοντες ενσωματώνονται στις νανοΐνες για ελεγχόμενη απελευθέρωση. [180]



Εικόνα 16: Παράγοντες εγκλεισμού σε ίνες [181]

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι έχει αποδειχθεί πως τα ηλεκτροστατικά ινοποιημένα πολυμερικά επιθέματα προάγουν την κυτταρική μετανάστευση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, με αποτέλεσμα να αποτελούν κατάλληλες δομές για την κυτταρική προσκόλληση και υποστήριξη σχηματισμών αναγεννημένων ιστών. Ακόμη, έχει αποδειχθεί ότι τέτοια επιθέματα, παρασκευασμένα από ηλεκτροστατική ινοποίηση, ανάλογα με το υλικό από το οποίο έχουν παρασκευαστεί, προάγουν την αιμόσταση, την απορρόφηση, την ανταλλαγή υγρών (υγρασία από το περιβάλλον και εξίδρωμα από την πληγή), την κυτταρική αναπνοή καθώς και τη διαπερατότητα οξυγόνου μεταξύ του περιβάλλοντος και της καλυμμένης από το επίθεμα περιοχής, ενώ είναι σε θέση να ενεργοποιούν την επουλωτική διαδικασία, μειώνοντας παράλληλα τη βακτηριακή μόλυνση. [181]

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η δερματική φλεγμονή είναι η εστιασμένη τοπική αντίδραση του δέρματος σε κάποιον ερεθισμό, τραύμα, ασθένεια ή βλάβη. Μπορεί να οφείλεται σε ενδογενείς ή εξωγενείς παράγοντες. Ένας σημαντικός παράγοντας ο οποίος συχνά προκαλεί φλεγμονώδη αντίδραση στο δέρμα είναι η ηλιακή ακτινοβολία.

Η αντιμετώπιση της φλεγμονής από την ηλιακή ακτινοβολία έχει μέχρι σήμερα περιοριστεί κυρίως στη χρήση προϊόντων τοπικής χορήγησης με ενυδατικές, επουλωτικές ή αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες , όπως κρέμες ή γέλες. Όμως, με τη χρήση τέτοιων μορφών τοπικών σκευασμάτων η θεραπεία δεν μπορεί να είναι ελεγχόμενη.

Για το σκοπό αυτό, στη συγκεκριμένη μελέτη, έγινε προσπάθεια θεραπευτικής προσέγγισης της φλεγμονής με τη χρήση εικοσιτετράωρου επιθέματος με το οποίο θα εξασφαλιζόταν ελεγχόμενη θεραπεία και σταθερή δόση φαρμάκου 24 ώρες το εικοσιτετράωρο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ – ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

10.1. Πειραματόζωα

Τα πειραματόζωα που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη μας ήταν άτριχοι θηλυκοί μύες τύπου SKH-1, ηλικίας 3-9 μηνών και προέρχονταν από το εργαστήριο Μικρών Πειραματόζωων της Φαρμακευτικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων τα ζώα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε κατάλληλη τροφή για μύες και σε νερό δικτύου. Η θερμοκρασία στο χώρο πειραματισμού ήταν ελεγχόμενη και σταθερή μεταξύ 22°C και 25°C και η υγρασία πάνω από 30% (Κωδικός Πειραματικής Μονάδας: 25 BIO 07, Αριθμός Αδείας Πειράματος: 3255/7-06-2017),.

10.2. Υλικά

1. Εκχύλισμα του φυτού *Pinus halepensis*
(Ελήφθη από το εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων της Φαρμακευτικής Σχολής του ΕΚΠΑ)
2. Πολυμερή:
 - ✓ Αλγινικό Νάτριο (SA)
(Mw: 216, 121, CELSCO CHEMICALS SA)
 - ✓ Οξική Κυτταρίνη (CA)
(Mw: 50.000, SIGMA-ALDRICH)
 - ✓ Πολυαιθυλενοξειδίο (PEO)
(Mw: 7.000.000, SIGMA-ALDRICH)
3. EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8 \cdot Na_2 \cdot 2H_2O$)
(Mw: 372,3, SERVA)
4. BHT ($C_{15}H_{24}O$)
(Mw: 220,35, SIGMA-ALDRICH)
5. Desferal[®]
(Ciba)
6. Φωσφορικό Νάτριο (NaH_2PO_4)
(Mw: 119,98, SIGMA-ALDRICH)

7. Χλωριούχο Νάτριο (NaCl)
(Mw: 58,44, SIGMA-ALDRICH)
8. Ακετόνη
(Mw: 58,08, SIGMA-ALDRICH)
9. Μεθανόλη (MeOH)
(Mw: 32,04, Fisher Chemical)
10. Αποσταγμένο Νερό
11. Προπυλενογλυκόλη
(Mw: 76,095, CHEMCO)
12. Φορμαλδεΰδη
(Gurr[®], BDH Prolabo)
13. Αποστειρωμένες Γάζες
(Asepta Gauze[®], ASEPTA)
14. Κολλητικό Επίθεμα
(Aseptafix[®], ASEPTA)
15. Κολλητικό Επίθεμα
(Pharmafix[®], Cureplast)
16. Αυτοκόλλητη επιδεσμική ταινία σε ρολό ύφασμα, καφέ χρώματος
(Roltex[®] skin, MASTER AID[®])
17. Κολλητική ταινία
(Invisible, 3M)
18. Φιαλίδια “Eppendorf”
19. Αλουμινόχαρτο
20. Ανεξίτηλος μαρκαδόρος

10.3. Μέθοδοι

Παραλαβή εκχυλίσματος Χαλέπειου πεύκης (*P. halepensis*)

Ο φλοιός Χαλέπειου πεύκης κονιοποιήθηκε και αναμίχθηκε με δεκαπλάσια ποσότητα αποσταγμένου νερού (w/w). Το μίγμα παρέμεινε επί 48 ώρες στους 45°C με περιοδική ανάδευση. Ακολούθησε διήθηση, αρχικά από βαμβακερό ύφασμα και στη συνέχεια από ηθμό Whatman. Το διήθημα συμπυκνώθηκε υπό κενό και το τελικό σιροπώδες υπόλειμμα ξηράνθηκε σε λυοφιλοποιητή. Το στερεό υπόλειμμα κονιοποιήθηκε και διατηρήθηκε σε ψυγείο μέχρι τη χρήση του.

Παρασκευή πολυμερικών επιθεμάτων

Για τη σύνθεση των πολυμερικών επιθεμάτων χρησιμοποιήθηκε διάταξη ηλεκτροστατικής ινοποίησης με περιστροφικό συλλέκτη-τύμπανο RC-6000 (NaBond Technologies), δύο αντλίες ροής (Harvard PHD 200 programmable και Graseby 3100 Syringe pump, USA) και μια γεννήτρια υψηλής τάσης ρεύματος (Gamma High Voltage Research, Ormond Beach, FL, USA), του εργαστηρίου της Φαρμακογνώσιας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, της Φαρμακευτικής Σχολής του ΕΚΠΑ. Αρχικά, παρασκευάστηκαν τα πολυμερικά διαλύματα προς ηλεκτροϊνοποίηση, των αντίστοιχων επιθεμάτων που επρόκειτο να συντεθούν, και ποσότητες αυτών εισήχθησαν στις δύο σύριγγες των αντλιών ροής. Από εκεί, τα δύο διαλύματα έρεαν αντιπαράλληλα, από τις δύο διαφορετικές αντλίες, με συγκεκριμένη ταχύτητα και απόσταση από τον περιστροφικό συλλέκτη το καθένα. Η υψηλή τάση ρεύματος που εφαρμοζόταν παράλληλα (25kV), εξάτμιζε το διαλύτη των διαλυμάτων και οι πολυμερικές νανοϊνες συλλέγονταν στον περιστροφικό συλλέκτη σχηματίζοντας σταδιακά το επίθεμα.

Ακτινοβολήση δέρματος μυών με υπεριώδη ακτινοβολία

Η πρόκληση εγκαύματος στους μύες έγινε με λάμπα Xenon lamp Oriel® (400-1000 Watts, USA). Μισή ώρα πριν την ακτινοβολήση, γινόταν εκκίνηση του τροφοδοτικού μηχανήματος (“ORION” –Universal Power Supply-68820”) και ακολουθούσε αναμονή, για περίπου 20 λεπτά, μέχρι τη σταθεροποίηση της τάσης του μηχανήματος (ο διακόπτης έπρεπε να βρίσκεται στην ένδειξη “Volt”). Στη συνέχεια, αυστηρά με χρήση προστατευτικών γυαλιών έναντι της UV, γινόταν εκκίνηση της λειτουργίας του απαγωγού, της λάμπας και της βρύσης, όπου ακολουθούσε δεκάλεπτη αναμονή για τη σταθεροποίηση λειτουργίας της λάμπας. Μετά το πέρας των 10 λεπτών, χρησιμοποιούνταν μετρητές UVA και UVB για τη μέτρηση της έντασης κάθε ακτινοβολίας κατά τη διάρκεια της ακτινοβολήσης. Η κεντρική περιοχή επιφάνειας του δέρματος των μυών ακτινοβολήθηκε άπαξ με τρεις ελάχιστες ερυθματόδεις δόσεις (3 M.E.D), για χρόνο 15 δευτερολέπτων, με σκοπό την πρόκληση μικρής έντασης φλεγμονής. Η συγκεκριμένη περιοχή οριοθετήθηκε με την επικόλληση προσωρινών για την ακτινοβολήση επιθεμάτων (Pharmafix®, Cureplast), διαστάσεων 3cm×4cm και οπής διαμέτρου 2cm στο σημείο ακτινοβολήσης.

Η λάμπα Xenon ήταν τοποθετημένη σε κατάλληλη διάταξη στήριξης, ψύξης και τροφοδοσίας και η ακτινοβολία UVA είχε ισχύ 10,9 mW/cm² (στο πείραμα Α΄) και 10,8 mW/cm² (στο πείραμα Β΄) ενώ η UVB 13,7 mW/cm² (στο πείραμα Α΄) και 14,9 mW/cm² (στο πείραμα Β΄).

Εφαρμογή επιθεμάτων

Τα διαφορετικά επιθέματα που χρησιμοποιούνταν για κάθε ομάδα ζώων (SA/PEO/CA/P. *halensis* 8,2% w/w, SA/PEO/CA, PEO/CA και αποστειρωμένη γάζα, στο πείραμα Α' και SA/PEO/CA/P. *halensis* 15,1% w/w, SA/PEO/CA/P. *halensis* 4,25% w/w, SA/PEO/CA, PEO/CA και αποστειρωμένη γάζα, στο πείραμα Β'), εφαρμόζονταν στους μύες για 24 ώρες και στη συνέχεια αλλάζονταν. Συγκεκριμένα, για την τοποθέτησή τους, αρχικά, κόβονταν σε διαστάσεις 2cm×2cm και στη συνέχεια σταθεροποιούνταν στο σημείο της φλεγμονής με κολλητικό επίθεμα (Aseptafix[®], ASEPTA), διαστάσεων 2cm ×8cm, το οποίο εκollάτο περιφερειακά στο σώμα του ζώου. Η σταθεροποίηση της επίδεσης ολοκληρωνόταν με ένα κομμάτι αυτοκόλλητης επιδεσμικής ταινίας (Roltex[®] skin, MASTER AID[®]), διαστάσεων 1,5cm×1cm. Η εφαρμογή των επιθεμάτων γινόταν πάντα σε στεγνή και καθαρή επιφάνεια. Για την αφαίρεσή τους, εμποτίζονταν αρχικά με προπυλενογλυκόλη η οποία «μαλάκωνε» την κόλλα και στη συνέχεια με τη βοήθεια λαβίδας αφαιρούνταν προσεκτικά διατηρώντας ακέραιο το δέρμα των μυών.

10.4. Μέθοδοι εκτίμησης μετρήσιμων παραμέτρων

10.4.1. Κλινική εικόνα – Λήψη φωτογραφιών

Η μελέτη της φλεγμονής στο δέρμα των μυών έγινε με καθημερινή παρατήρηση και λήψη φωτογραφιών που ελήφθησαν με φωτογραφική μηχανή Nikon D5100, με φακό AF-S Micro Nikkor 60 mm f/2.8 G ED, SWMED IF Aspherical, USA, η οποία βρισκόταν σε σταθερή απόσταση περίπου 33cm κάθετα από το αντικείμενο φωτογράφισης.

10.4.2. Αξιολόγηση Άδηλης Απώλειας νερού (TEWL)

Ως άδηλη απώλεια νερού ορίζεται η συνεχής μετακίνηση νερού από τις κατώτερες προς τις ανώτερες στιβάδες του δέρματος. Συγκεκριμένα, περιγράφει το συνολικό ποσό ύδατος που αποβάλλεται από το δέρμα, απώλεια που συμβαίνει με παθητική διάχυση δια μέσου της επιδερμίδας (Πηγή: «Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών Προϊόντων», Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ). Στο συγκεκριμένο πείραμα, η αξιολόγηση της άδηλης απώλειας νερού (TEWL) πραγματοποιήθηκε με το όργανο Tewameter[®] TM 240 (Courage-Khazaka, Germany) το οποίο πριν τη μέτρηση έπρεπε αρχικά να εξισορροπηθεί για περίπου ένα τέταρτο. Στη

συνέχεια, κάθε μυς σχεδόν ακινητοποιούταν και ο ειδικός αισθητήρας εφάπτετο πάνω στην ακτινοβολημένη περιοχή για περίπου ένα λεπτό (ή μέχρι η μέτρηση να σταθεροποιηθεί) όπου λαμβανόταν μια μέτρηση (αν το ζώο ήταν ανήσυχο, λαμβανόταν και δεύτερη μέτρηση για επιβεβαίωση). Αξίζει να αναφερθεί ότι πρόκειται για μια πολύ ευαίσθητη μέτρηση κατά την οποία ο θόρυβος, η κίνησή ή ο αέρας μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά το αποτέλεσμα.

Γενικά, η μέτρηση της άδηλης απώλειας ύδατος στηρίζεται στην αρχή της διάχυσης σε ανοικτό θάλαμο:

$$\frac{dm}{dt} = -D * A * \frac{dp}{dx}$$

όπου:

- A = επιφάνεια (m²)
- m = νερό που εξατμίζεται (g)
- t = χρόνος (h)
- D = σταθερά διάχυσης (= 0,0877g / (m*h*(mmHg))
- P = ατμοσφαιρική πίεση (mmHg)
- x = απόσταση της επιφάνειας του δέρματος από το σημείο μέτρησης (m)

Με τη συγκεκριμένη παράμετρο αξιολογείται η λειτουργία του δερματικού φραγμού. Ακόμα και η μικρότερη βλάβη, όπου δεν μπορεί να γίνει ορατή με γυμνό μάτι, προκαλεί αλλαγές στην απώλεια ύδατος και μπορεί να προσδιοριστεί. Όταν ο φραγμός του δέρματος είναι φυσιολογικός, η απώλεια του νερού είναι καθορισμένη. Όταν υποστεί έστω και ελαφρά βλάβη η κεράτινη στιβάδα του δέρματος, τότε η τιμή της άδηλης απώλειας ύδατος αυξάνεται. Ο αισθητήρας μπορεί να μετρήσει τη διαφορά στο ρυθμό απώλειας του νερού μέσω ενός ζεύγους ανιχνευτών που διαθέτει (ένας για τη μέτρηση της θερμοκρασίας και ένας για τη μέτρηση της σχετικής υγρασίας). Η απώλεια αυτή εκφράζεται σε ποσότητα ύδατος σε σχέση με το χρόνο και την επιφάνεια (g/h/m²).



Εικόνα 17: Όργανο μέτρησης άδηλης απώλειας νερού (Tewameter[®] TM 240).

10.4.3. Αξιολόγηση της Ενυδάτωσης

Η ενυδάτωση του δέρματος αφορά στην περιεκτικότητα της κεράτινης στιβάδας σε νερό. Το δέρμα είναι φυσιολογικά ενυδατωμένο όταν το νερό βρίσκεται στην κεράτινη στιβάδα σε ποσοστό γύρω στα 13%. Τα όρια της καλής ενυδάτωσης είναι 10-16%. Η μείωση αυτού του νερού σε ποσοστό μικρότερο του 10% συνοδεύεται από ξηρότητα, τραχύτητα, ευθραυστότητα. Η λεπιώδης εμφάνιση, η οποία παρατηρείται σε πολλές δερματικές βλάβες στην κλινική πράξη, οφείλεται στην ελαττωματική λειτουργία της παθολογικής κεράτινης στιβάδας, η οποία δε μπορεί να συγκρατήσει αρκετή υγρασία ακόμα και σε κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες. Αντίθετα, η αύξηση του νερού σε ποσοστό μεγαλύτερο του 16% προκαλεί υπερενυδάτωση με αποτέλεσμα την απώλεια της συμπαγούς δομής της κεράτινης στιβάδας (Πηγή: «Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών Προϊόντων», Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ).

Η αξιολόγηση της ενυδάτωσης, στο συγκεκριμένο πείραμα, πραγματοποιήθηκε με το όργανο Corneometer® CM 820 (Courage-Khazaka, Germany) το οποίο μετρά σε αυθαίρετες μονάδες από 0 (μηδενική ποσότητα νερού) - 120 (υψηλή ποσότητα νερού). Για κάθε μν λαμβάνονταν 3 μετρήσεις με αισθητήρα μικρής ικανότητας εισδοχής στο δέρμα (40μm) που μπορούσε να μετρήσει μόνο την περιεκτικότητα της κεράτινης στιβάδας. Το Corneometer® αξιολογεί την ηλεκτρική χωρητικότητα στην κεράτινη στιβάδα του δέρματος. Όσο μεγαλύτερη είναι αυτή, τόσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωση ύδατος στην κεράτινη στιβάδα. Οι μονάδες μέτρησης έχουν καθιερωθεί ως «μονάδες Corneometer». Το βάθος διείσδυσης του ηλεκτρικού πεδίου σκέδασης είναι αποδεδειγμένα πολύ μικρό, έτσι ώστε μόνο η υγρασία στην επιφάνεια του δέρματος να μετριέται. Η χρονική διάρκεια της μέτρησης είναι πολύ σύντομη (1 δευτερόλεπτο) και έτσι αποτρέπει τη δημιουργία απόφραξης που επηρεάζει το αποτέλεσμα. Η μικρή κεφαλή μέτρησης επιτρέπει μετρήσεις σε όλα τα σημεία του σώματος. Η μέτρηση της χωρητικότητας πρέπει να έχει πλήρη επαφή με την επιφάνεια στήριξης.

10.4.4. Αξιολόγηση του Σμήγματος

Η ύπαρξη και η ποσότητα του σμήγματος μετρήθηκε με το σμηγματόμετρο Sebumeter® SM 810 (Courage-Khazaka, Germany) το οποίο διαθέτει ειδική ταινία που αντιδρά μόνο με το σμήγμα, ανεξαρτήτως της περιεκτικότητας σε νερό. Κατά τη μέτρηση, η ταινία του σμηγματόμετρου εφάπτετο σταθερά πάνω στην ακτινοβολημένη περιοχή για 30 δευτερόλεπτα και στη συνέχεια το δείγμα, εισερχόταν στο φωτόμετρο όπου αξιολογούνταν φωτομετρικά η διαπερατότητα του φωτός (Πηγή: «Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών

Προϊόντων», Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ) .



Εικόνα 18: Όργανο μέτρησης ενυδάτωσης και σμήγματος (Corneometer[®] CM 820, Sebumeter[®] SM 810).

10.4.5 Αξιολόγηση της Ελαστικότητας

Το δέρμα, ως ένας εκ των σημαντικότερων ιστών που απαρτίζουν και προστατεύουν έναν οργανισμό, πρέπει εκτός από ανθεκτικό να είναι και ελαστικό, έτσι ώστε να αντέχει στις μηχανικές πιέσεις που του ασκούνται. Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα για την αξιολόγηση της ελαστικότητας του ανώτερου στρώματος του δέρματος των μυών ήταν το Cutometer[®] MPA 580 (Courage-Khazaka, Germany) όπου με τη χρήση αρνητικής πίεσης, το δέρμα υφίστατο μηχανική παραμόρφωση. Η μέτρηση αυτή βασίζεται στη μέθοδο αναρρόφησης/επιμήκυνσης. Αναλυτικότερα, κατά τη διάρκεια του πειράματος, η κεφαλή μέτρησης που φέρει ελατήριο και μια οπή, τοποθετούταν κάθετα στην υπό εξέταση περιοχή του δέρματος των μυών όπου μέσω μιας αντλίας κενού, εφαρμοζόταν από το μηχανήμα υποπίεση, για μερικά δευτερόλεπτα. Η υποπίεση διεκόπτετο και ακολουθούσε ένα διάστημα αποκατάστασης. Η κάθετη επιμήκυνση του δέρματος κατά την αναρρόφηση ανιχνευόταν μέσω οπτικού σήματος («Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών Προϊόντων», Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ). Το οπτικό σύστημα μετρήσεων αποτελούταν από μια πηγή φωτός και έναν ελαφρύ δέκτη, καθώς και δύο αντικριστά πρίσματα, τα οποία πρόβαλλαν το φως από τον πομπό προς τον υποδοχέα. Η ένταση του φωτός διέφερε λόγω του βάθους διείσδυσης του δέρματος. Με την αντίσταση του δέρματος στην αρνητική πίεση (σταθερότητα) και την ικανότητά του να επιστρέφει στην αρχική του θέση (ελαστικότητα) μετρούταν το βάθος διείσδυσης της κεφαλής μέτρησης του αισθητήρα σε mm / ώρα. Αυτή η

αρχή της μέτρησης επιτρέπει γενικά τη λήψη πληροφοριών σχετικά με τις ελαστικές και μηχανικές ιδιότητες της επιφάνειας του δέρματος καθώς και την αντικειμενική ποσοτικοποίηση μιας βασικής ιδιότητας η οποία χαρακτηρίζει τη γήρανση του δέρματος. Το λογισμικό του Cutometer® MPA 580 επιτρέπει τον υπολογισμό διάφορων παραμέτρων από τα διαφορετικά τμήματα της καμπύλης μέτρησης. Συγκεκριμένα, μετρήσαμε την παράμετρο R2 (Gross elasticity) με την οποία εκτιμάται η αντίσταση έναντι της ικανότητας επιστροφής. Όσο πιο κοντά στο 1 (100%) είναι η τιμή, τόσο πιο ελαστικό είναι το δέρμα (Πηγή: «Έλεγχος και Αξιολόγηση Καλλυντικών Προϊόντων», Εργαστηριακές Ασκήσεις, Εργαστήριο Δερματοφαρμακολογίας – Κοσμητολογίας, Φαρμακευτική Σχολή, ΕΚΠΑ).

10.4.6. Αξιολόγηση του Πάχους του δέρματος

Η υπεριώδης ακτινοβολία προκαλεί φαινόμενα υπερκεράτωσης της επιδερμίδας. Το πάχος του δέρματος, στο πείραμα, μετρήθηκε με τη χρήση ψηφιακού παχύμετρου. Η ένδειξη του οργάνου ήταν σε χιλιοστά (mm).

10.4.7. Αξιολόγηση της Ερυθρότητας

Η μέτρηση της ερυθρότητας του δέρματος στο πείραμα έγινε με την χρήση του φωτόμετρου Mexameter® MX 18 (Courage-Khazaka, Germany). Η αρχή λειτουργίας του οργάνου στηρίζεται στην απορρόφηση και στην αντανάκλαση της ακτινοβολίας. Για τη μέτρηση της ερυθρότητας ο αισθητήρας εκπέμπει σε μήκη κύματος τα οποία αντιστοιχούν στις κορυφές απορρόφησης της αιμοσφαιρίνης. Ένας ανιχνευτής μετρά την ακτινοβολία που ανακλάται από την επιδερμίδα. Η ποσότητα της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας είναι καθορισμένη, επομένως υπολογίζεται από το όργανο η ποσότητα που έχει απορροφηθεί. Κατά τη διάρκεια του πειράματος, ο αισθητήρας εφάπτετο στιγμιαία σε σημείο της υπό εξέταση περιοχής όπου πραγματοποιούνταν η μέτρηση. Για κάθε μν, λαμβάνονταν 4 τέτοιες μετρήσεις και στο τέλος προέκυπτε ο μέσος όρος τους, ο οποίος τελικά χρησιμοποιούνταν στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.



Εικόνα 19: Όργανο μέτρησης ερυθρότητας (Mexameter® MX 18).

10.4.8. Λήψη stripping από την ακτινοβολημένη ράχη των μυών

Την τελευταία μέρα του πειράματος, πραγματοποιούνταν λήψη stripping (λήψη κυττάρων από την κεράτινη στιβάδα της ακτινοβολημένης περιοχής) από τους μύες. Συγκεκριμένα, με χειρουργική λαβίδα και ψαλίδι κοβόταν τμήμα της κολλητικής ταινίας (Invisible, 3M) σε διαστάσεις $2\text{cm} \times 3\text{cm}$ το οποίο πιεζόταν στη πλάτη των μυών 3 φορές και μετά τραβιόταν με δύναμη. Αυτό επαναλαμβανόταν δύο φορές για κάθε ζώο. Τα κομμάτια του stripping τοποθετούνταν σε κομμάτια αλουμινόχαρτου, αριθμημένα ανάλογα με το ζώο και την ομάδα, και φυλάσσονταν στους -80°C .

10.4.9. Λήψη δέρματος από την ακτινοβολημένη ράχη των μυών

Εκτός από stripping, στο τέλος του πειράματος, λαμβανόταν από τους μύες και τμήμα δέρματος από το σημείο της ακτινοβολήσης της ράχης των μυών. Συγκεκριμένα, με χειρουργική λαβίδα ανασηκωνόταν το δέρμα λίγο κάτω από το σημείο της φλεγμονής και με ψαλίδι κοβόταν και λαμβανόταν τμήμα διαστάσεων $2\text{cm} \times 2\text{cm}$ το οποίο αποστελλόταν για ιστοπαθολογική μελέτη. Τα κομμάτια του δέρματος τοποθετούνταν σε αριθμημένα ανάλογα με το ζώο και την ομάδα κομμάτια αλουμινόχαρτου και φυλάσσονταν στους -80°C .

10.4.10. Εκχύλιση των strippings

Στα πλαίσια του πειράματος και με απώτερο σκοπό την εκτίμηση της ποσότητας των αντιοξειδωτικών στην κεράτινη στιβάδα του δέρματος, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση όλων των strippings. Συγκεκριμένα, με τη χρήση χειρουργικής λαβίδας τα κομμάτια της κολλητικής ταινίας (Invisible, 3M) που χρησιμοποιήθηκαν για τα strippings, μεταφέρονταν από τον πάγο (κατά το πείραμα τα δείγματα διατηρούνταν σε πάγο και σε χώρο με χαμηλό

φωτισμό για αποφυγή αυτοοξειδωσης) σε erppendorf όπου προσθέτονταν 500μl H_2O_{HPLC} (αποσταγμένο νερό), 200μl MeOH:EDTA 90:10 (Mw: 32,04, Fisher Chemical και Mw: 372,3, SERVA, αντίστοιχα.), 75μl BHT (Mw: 220,35, SIGMA-ALDRICH) και 1,5μl Desferal (Ciba). Στο erppendorf πραγματοποιούταν vortex (MS1 Minishaker IKA®) για 1 λεπτό στις 2.500 στροφές (2.500 rpm) και φυγοκέντρωση (σε φυγόκεντρο τύπου Sigma 202 MK) των δειγμάτων για 7 λεπτά στις 10.000 στροφές (10.000 rpm) στους -5°C. Στη συνέχεια, το υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος μεταφερόταν με απόχυση σε καινούριο erppendorf και στο τέλος όλα τα εκχυλισμένα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -80°C.

10.4.11.Εκχύλιση των δερμάτων

Για μελλοντική εκτίμηση της ποσότητας των αντιοξειδωτικών στο ακτινοβολημένο δέρμα, πραγματοποιήθηκε και εκχύλιση όλων των δερμάτων. Συγκεκριμένα, με τη χρήση χειρουργικής λαβίδας, τα κομμάτια των δερμάτων που είχαν ληφθεί κατά τη λήξη των πειραμάτων, κόβονταν και ζυγίζονταν 100mg από το καθένα τα οποία τεμαχίζονταν σε πολύ μικρά κομμάτια (όσο μικρότερα τα κομμάτια, τόσο ακριβέστερη η ποσότητα των αντιοξειδωτικών που επρόκειτο να εκτιμηθεί) Στη συνέχεια, τοποθετούνταν στο γυάλινο δοχείο του ομογενοποιητή (Dounce homogenizer, Black & Decker) όπου προσθέτονταν 1200μl ρυθμιστικού διαλύματος NaH_2PO_4 (EDTA: Mw: 372,3, SERVA, NaH_2PO_4 : Mw: 119,98, SIGMA-ALDRICH, NaCl: Mw) και 75μl BHT (Mw: 220,35, SIGMA-ALDRICH), προς αποφυγή αυτοοξειδωσης. Ακολουθούσε ομογενοποίηση για 1 λεπτό (σε ταχύτητα 4) και το ομογενοποίημα μεταφερόταν σε erppendorf. Έπειτα, ακολουθούσε φυγοκέντρωση των δειγμάτων για 5 λεπτά στις 7000 στροφές (7000 rpm) στους -5°C. Στη συνέχεια, το υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος μεταφερόταν με απόχυση σε καινούριο erppendorf και στο τέλος όλα τα εκχυλισμένα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -80°C.

10.5. Ιστοπαθολογική Μελέτη

Η ιστοπαθολογική μελέτη των δερμάτων των μυών πραγματοποιήθηκε στο παθολογοανατομικό εργαστήριο του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών. Σε τομές δερμάτων από αντιπροσωπευτικά δείγματα κάθε ομάδας μυών έγινε χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης και στη συνέχεια βγήκαν συμπεράσματα για τη φλεγμονή, την υπερκεράτωση και τον ερεθισμό του δέρματος.

10.6. Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων

Στην παρούσα εργασία έγινε παρουσίαση των περιγραφικών μεγεθών των δεδομένων και χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης. Για την εύρεση του μέσου όρου, της τυπικής απόκλισης και τη δημιουργία των διαγραμμάτων χρησιμοποιήθηκε το Excel® (Microsoft Office 2007). Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό λογισμικό SPSS 23.0. για Windows.

❖ Έλεγχος κανονικότητας

Αρχικά πραγματοποιήθηκε έλεγχος κανονικότητας των δεδομένων προκειμένου να επιλεγούν παραμετρικές ή μη παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια Kolmogorov-Smirnov και Shapiro-Wilk. Τα κριτήρια αυτά αποτελούν μη παραμετρικές στατιστικές μεθόδους που ελέγχουν αν η κατανομή του πληθυσμού, από τον οποίο προήλθε το τυχαίο δείγμα, ακολουθεί μία συγκεκριμένη κατανομή πιθανότητας (πχ. κανονική). Στην παρούσα ανάλυση ο έλεγχος κανονικότητας εφαρμόστηκε για καθεμία ομάδων μυνών και ξεχωριστά κάθε χρονική στιγμή. Σε όλες τις περιπτώσεις, προέκυψε ότι τα δεδομένα ακολουθούν κανονική κατανομή ($p > 0,05$).

❖ ANOVA

Για τη διαπίστωση τυχόν στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των επεμβάσεων εφαρμόστηκε η ανάλυση διασποράς (ANOVA). Η ANOVA χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της στατιστικής σημαντικότητας των διαφορών των μέσων όρων περισσότερων από δύο ομάδων-δειγμάτων. Βασική αρχή της ανάλυσης διακύμανσης είναι ότι η συνολική διασπορά που παρατηρείται σε μία μέτρηση, προέρχεται από δύο πηγές:

- Τη διακύμανση μεταξύ των ομάδων (Μ.Ο.). Για κάθε ομάδα-δείγμα της έρευνας προκύπτει διαφορετικός μέσος όρος. Όσο περισσότερο διαφέρουν, μεταβάλλονται οι μετρήσεις μεταξύ των διαφορετικών ομάδων, τόσο πιθανότερο είναι να απορρίψουμε τη μηδενική υπόθεση.
- Τη διακύμανση εντός των ομάδων (Ε.Ο.). Από όλα τα υποκείμενα της ίδιας ομάδας δεν λαμβάνουμε την ίδια τιμή. Υπάρχουν ατομικές διαφορές. Αυτή η πηγή διαφοροποίησης των μετρήσεων αναφέρεται και ως σφάλμα. Όσο μικρότερο είναι το σφάλμα της μέτρησης, τόσο πιθανότερο είναι να απορρίψουμε τη μηδενική υπόθεση.

Τα αποτελέσματα της ANOVA αξιολογήθηκαν παρατηρώντας την τιμή της σημαντικότητας και την εφαρμογή κριτηρίων post-hoc. Για τη συγκεκριμένη ανάλυση τα post-hoc κριτήρια που εφαρμόστηκε ήταν το LSD (Least Significant Difference), το Tukey, το Duncan, το Tamhane's T2, το Bonferonni και το Dunnett's T3. Το όριο για τη σημαντικότητα σε όλες τις δοκιμές ήταν $p \leq 0,05$.

❖ Paired t-test

Το κριτήριο t για εξαρτημένα δείγματα ελέγχει αν οι πληθυσμιακοί μέσοι όροι ανάμεσα σε ζεύγη παρατηρήσεων διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Στην περίπτωση αυτή αναφερόμαστε στις τιμές της ίδιας ποσοτικής μεταβλητής που παρατηρήθηκαν κάτω από δύο διαφορετικές καταστάσεις (π.χ. περίπτωση αρχικής και τελικής ημέρας πειράματος).

❖ Independent samples t-test

Το κριτήριο t για ανεξάρτητα δείγματα ελέγχει αν οι πληθυσμιακοί μέσοι όροι δύο ανεξάρτητων ομάδων, διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Κατά την πραγματοποίηση αυτού του ελέγχου στο SPSS ουσιαστικά εμπλέκονται δύο μεταβλητές: μία ποσοτική και μία μεταβλητή που κατηγοριοποιεί τις παρατηρήσεις του αρχείου σε δύο ομάδες και η σύγκριση αφορά τις μέσες τιμές της ποσοτικής μεταβλητής στις δύο ομάδες που χωρίζονται από τις τιμές της μεταβλητής ομαδοποίησης.

10.7. Περιγραφή Πειράματος

10.7.1. Σύνοψη

Αρχικά, στο εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, παρασκευάστηκαν τα πολυμερικά διαλύματα των οποίων η ηλεκτροϊονοποίηση δημιούργησε τα επιθέματα που στη συνέχεια θα αξιολογούνταν *in vivo* για την αντιφλεγμονώδη δράση τους. Η ηλεκτροϊονοποίηση πραγματοποιήθηκε σε οριζόντια διάταξη ηλεκτροστατικής ιονοποίησης και αντιπαράλληλη, ταυτόχρονη ροή δύο πολυμερικών διαλυμάτων. Κατά την ιονοποίηση και υπό την εφαρμογή υψηλής τάσης ρεύματος, ο διαλύτης εξατμιζόταν και σχηματίζονταν ίνες νάνο κλίμακας που συλλέγονταν πάνω στον περιστροφικό συλλέκτη, δημιουργώντας το επίθεμα.

Στη συνέχεια του πειράματος εξετάστηκε η αντιφλεγμονώδης δράση των επιθεμάτων καθώς και η επίδραση τους στις ιδιότητες του δέρματος, με την εκτίμηση συγκεκριμένων παραμέτρων. Πραγματοποιήθηκαν δύο *in vivo* πειράματα. Στο πρώτο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 24 θηλυκοί, άτριχοι μύες τύπου SKH-1, χωρισμένοι σε 4 ομάδες των 6 ζώων, (στις 3 ομάδες εφαρμόστηκε διαφορετικό πολυμερικό επίθεμα ενώ στην ομάδα των μαρτύρων εφαρμόστηκε απλή αποστειρωμένη γάζα) και στο δεύτερο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 30 θηλυκοί, άτριχοι μύες τύπου SKH-1, χωρισμένοι σε 5 ομάδες των 6 ζώων (στις 4 ομάδες εφαρμόστηκε διαφορετικό πολυμερικό επίθεμα ενώ στην ομάδα των μαρτύρων εφαρμόστηκε απλή αποστειρωμένη γάζα). Καθένα από τα δύο πειράματα διήρκησε 10 ημέρες και στο τέλος κάθε πειράματος οι μύες θυσιάστηκαν και ελήφθησαν *strippings* και τμήματα ακτινοβολημένου δέρματος. Τα τελευταία στάλθηκαν για ιστοπαθολογική μελέτη.

10.7.2. Παρασκευή πολυμερικών διαλυμάτων και δημιουργία επιθεμάτων

Για την σύνθεση των επιθεμάτων αρχικά παρασκευάστηκαν τα εξής πολυμερικά διαλύματα: Για συνολικό όγκο διαλύματος 10ml χρησιμοποιήθηκαν:

- 1) 4% w/v PEO (0,4g)
- 2) 10% w/v CA (1g)
- 3) 3% w/v SA (0,3g) / 1,5% w/v PEO (0,15g)
- 4) 9% w/v CA (0.9g) / 0,5% w/v *P.halepensis* (0.05g)
- 5) 9% w/v CA (0.9g) / 1 % w/v *P.halepensis* (0.1g)
- 6) 9% w/v CA 0.9g) / 2 % w/v *P.halepensis* (0.2g)

Στη συνέχεια, τα διαλύματα αυτά ηλεκτροϊνοποιήθηκαν και παρασκευάστηκαν τα εξής επιθέματα:

- **Επιθέματα SA/PEO/CA/*P.halepensis*** (4,25% w/w, 8,2% w/w, 15,1% w/w)

Συνθήκες Ινοποίησης

- ✓ Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής SA/PEO από συλλέκτη: **20cm**
- ✓ Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής CA/*P. halepensis* από συλλέκτη: **10cm**
- ✓ Ταχύτητα ροής SA/PEO: **0,5ml/hr**
- ✓ Ταχύτητα ροής CA/*P. halepensis*: **15ml/hr**
- ✓ Διάμετρος τριχοειδούς σωλήνα (βελόνας): **23G**

- ✓ Τάση ρεύματος: **25kV**
- ✓ Στροφές: **~400rpm**

Η παρασκευή των επιθεμάτων έγινε με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε για κάθε ένα μέρος διαλύματος CA/*P. halepensis* χρειάστηκε μισό μέρος όγκου διαλύματος SA/PEO. Οπότε, με την αναγωγή, υπολογίστηκε το ποσοστό του εκχυλίσματος *P. halepensis* που περιεχόταν σε κάθε ένα από τα τρία επιθέματα, δηλαδή:

- 0,5% w/v *P.halepensis* (0.05g) → *P.halepensis* 4,25% w/w (σε κάθε επίθεμα)
- 1 % w/v *P.halepensis* (0.1g) → *P.halepensis* 8,2% w/w (σε κάθε επίθεμα)
- 2 % w/v *P.halepensis* (0.2g) → *P.halepensis* 15,1% w/w (σε κάθε επίθεμα)

➤ **Επίθεμα SA/PEO/CA**

Συνθήκες Ινοποίησης

- ✓ Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής SA/PEO από συλλέκτη: **20cm**
- ✓ Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής CA από συλλέκτη: **10cm**
- ✓ Ταχύτητα ροής SA/PEO: **0,5ml/hr**
- ✓ Ταχύτητα ροής CA: **15ml/hr**
- ✓ Διάμετρος τριχοειδούς σωλήνα (βελόνας): **23G**
- ✓ Τάση ρεύματος: **25kV**
- ✓ Στροφές: **~400rpm**

➤ **Επίθεμα PEO/CA**

Συνθήκες Ινοποίησης

- ✓ Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής PEO από συλλέκτη: **20cm**
- ✓ Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής CA από συλλέκτη: **10cm**
- ✓ Ταχύτητα ροής PEO: **0,5ml/hr**
- ✓ Ταχύτητα ροής CA: **15ml/hr**
- ✓ Διάμετρος τριχοειδούς σωλήνα (βελόνας): **23G**
- ✓ Τάση ρεύματος: **25kV**
- ✓ Στροφές: **~400rpm**

Πίνακας 3: Συνοπτική παρουσίαση των υλικών και των συνθηκών ινοποίησης κάθε επιθέματος..

		Επίθεμα				
	Υλικά (σε 10ml διαλύματος)	SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 15,1% w/w	SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 8,2% w/w	SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 4,25% w/w	SA/PEO/CA	PEO/CA
		3% w/v SA (0,3g) 1,5% w/v PEO(0,15g) 9% w/v CA (0,9g) <i>P.halepensis</i> (0,2g) 15,1% w/w	3% w/v SA (0,3g) 1,5% w/v PEO(0,15g) 9% w/v CA (0,9g) <i>P.halepensis</i> (0,1g) 8,2% w/w	3% w/v SA (0,3g) 1,5% w/v PEO(0,15g) 9% w/v CA (0,9g) <i>P.halepensis</i> (0,05g) 4,25% w/w	3% w/v SA (0,3g)1,5% w/v PEO(0,15g) 10% w/v CA (1g)	4% w/v PEO(0,4g) 10% w/v CA (1g)
	Διάρκεια Ινοποίησης	~1hr	~1hr	~1hr	~1hr	~1hr
ΣΥΝΘΗΚΕΣ	Τάση ρεύματος (kV)	25	25	25	25	25
	Στροφές (rpm)	~400	~400	~400	~400	~400
	Διάμετρος τριχοειδούς σωλήνα (βελόνας)	23G	23G	23G	23G	23G
	Ταχύτητα ροής CA/ <i>P. halepensis</i> (ml/hr)	15	15	15	-	-
	Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής CA/ <i>P. halepensis</i> από συλλέκτη (cm)	10	10	10	-	-
	Ταχύτητα ροής CA (ml/hr)	-	-	-	15	15
	Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής CA από συλλέκτη (cm)	-	-	-	10	10
	Ταχύτητα ροής SA/PEO (ml/hr)	0,5	0,5	0,5	0,5	-

	Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής SA/PEO από συλλέκτη (cm)	20	20	20	20	-
	Ταχύτητα ροής PEO (ml/hr)	-	-	-	-	0,5
	Απόσταση τριχοειδούς σωλήνα ροής PEO από συλλέκτη (cm)	-	-	-	-	20

10.7.3.1. Πείραμα Α΄

Εικοσιτέσσερις (24) θηλυκοί, άτριχοι, μύες τύπου SKH-1 χωρίστηκαν σε 4 ομάδες των 6 ζώων και εγκλιματίστηκαν αρχικά για μια βδομάδα στην αίθουσα και τις συνθήκες του πειραματισμού. Σε όλους τους μύες προκλήθηκε μικρής έντασης ηλιακό έγκαυμα, από τρεις ελάχιστες ερυθρηματώδεις δόσεις (3 M.E.D), με άπαξ ακτινοβολήση. Σε καθεμιά από τις τέσσερις ομάδες εφαρμόστηκε διαφορετικό πολυμερικό επίθεμα με τη μία ομάδα να λαμβάνει ως θεραπεία επίθεμα με δραστική ουσία *P.halepensis* 8,2% w/w και μία άλλη (μάρτυρες) να μη λαμβάνει καμία θεραπεία (αποστειρωμένη γάζα):

- 1) Επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 8,2% w/w (Ομάδα 1).
- 2) Επίθεμα SA/PEO/CA (Ομάδα 2).
- 3) Επίθεμα PEO/CA (Ομάδα 3).
- 4) Αποστειρωμένη Γάζα (Ομάδα 4, Μάρτυρες).

Τα επιθέματα αλλάζονταν και επανατοποθετούνταν κάθε 24 ώρες, για 10 ημέρες. Κάθε 3 μέρες λαμβάνονταν μετρήσεις για τις παραμέτρους: TEWL, Ενυδάτωση, Σμήγμα, Ελαστικότητα, Πάχος και Ερυθρότητας δέρματος. Στο τέλος του πειράματος, μετά τις τελευταίες μετρήσεις, τα ζώα θυσιάστηκαν με αυχενική εξάρθρωση και ελήφθησαν δείγματα της κεράτινης στιβάδας (strippings) και τμήμα του δέρματος, της ακτινοβολημένης ράχης, τα οποία και αποθηκεύτηκαν στους -80°C για ιστοπαθολογική αξιολόγηση και μελλοντική μέτρηση οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. Συνοπτική περιγραφή του πειράματος Α΄.

Ομάδες	Επίθεμα	Αριθμός Μυών	Ηλικία	Ασθένεια	Διάρκεια Πειράματος	Αλλαγή Επιθέματος	Μετρήσεις
1	SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 8,2% w/w	6	3-9 μηνών	Φλεγμονή	10 ημέρες	Κάθε 24 ώρες	TEWL, Ενυδάτωση, Σμήγμα, Ερυθρότητα, Πάχος, δερματός, Ελαστικότητα
2	SA/PEO/CA	6					
3	PEO/CA	6					
4	Αποστειρωμένη Γάζα (Ομάδα Control)	6					

10.7.3.2. Πείραμα Β΄

Τριάντα (30) άτριχοι, θηλυκοί μύες τύπου SKH-1 χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 6 ζώων και εγκλιματίστηκαν αρχικά για μια βδομάδα στην αίθουσα και τις συνθήκες του πειραματισμού. Σε όλους τους μύες προκλήθηκε μικρής έντασης ηλιακό έγκαυμα, από τρεις ελάχιστες ερυθματώδεις δόσεις (3 M.E.D), με άπαξ ακτινοβολήση. Σε καθεμιά από τις πέντε ομάδες εφαρμόστηκε διαφορετικό πολυμερικό επίθεμα με τις 2 ομάδες να λαμβάνουν ως θεραπεία επιθέματα με δραστική ουσία *P.halepensis* 15,1% w/w και *P.halepensis* 4,25% w/w και μία άλλη (μάρτυρες) να μη λαμβάνει καμία θεραπεία (αποστειρωμένη γάζα):

- 1) Επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w (Ομάδα 1).
- 2) Επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 4,25% w/w (Ομάδα 2).
- 3) Επίθεμα SA/PEO/CA (Ομάδα 3).
- 4) Επίθεμα PEO/CA (Ομάδα 4).
- 5) Αποστειρωμένη Γάζα (Ομάδα 5, Μάρτυρες).

Τα επιθέματα αλλάζονταν και επανατοποθετούνταν κάθε 24 ώρες, για 10 ημέρες. Κάθε 3 μέρες λαμβάνονταν μετρήσεις για τις παραμέτρους: TEWL, Ενυδάτωση, Σμήγμα, Ελαστικότητα, Πάχος και Ερυθρότητας δέρματος. Στο τέλος του πειράματος, μετά τις τελευταίες μετρήσεις, τα ζώα θυσιάστηκαν με αυχενική εξάρθρωση και ελήφθησαν δείγματα της κεράτινης στιβάδας (strippings) και τμήμα του δέρματος, της ακτινοβολημένης ράχης, τα οποία και αποθηκεύτηκαν στους -80°C για ιστοπαθολογική αξιολόγηση και μελλοντική μέτρηση οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Συνοπτική περιγραφή του πειράματος Β΄.

Ομάδες	Επίθεμα	Αριθμός Μυών	Ηλικία	Ασθένεια	Διάρκεια Πειράματος	Αλλαγή Επιθέματος	Μετρήσεις
1	SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 15,1 % w/w	6	3-9 μηνών	Φλεγμονή	10 ημέρες	Κάθε 24 ώρες	TEWL, Ενυδάτωση, Σμήγμα, Ερυθρότητα, Πάχος δέρματος, Ελαστικότητα
2	SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 4,25% w/w	6					
3	SA/PEO/CA	6					
4	PEO/CA	6					
5	Αποστειρωμένη Γάζα (Ομάδα Control)	6					

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

11. 1. Πείραμα Α΄

11.1.1. Αποτελέσματα TEWL

Η βλάβη και η πιθανή λύση του δέρματος είναι δυνατό να διαπιστωθούν και να καθοριστούν με την μέτρηση της άδηλης απώλειας νερού, TEWL. Όταν ο φραγμός του δέρματος είναι φυσιολογικός η απώλεια του νερού είναι καθορισμένη. Όσο αυξάνεται η τιμή της TEWL, τόσο πιο πιθανό είναι η λειτουργία του επιδερμικού φραγμού να έχει υποστεί βλάβη. Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της TEWL στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω **Πίνακα 7** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 1**.

❖ Αξίζει να σημειωθεί ότι από εδώ και πέρα, σε όλους τους πίνακες του πειράματος Α΄, ο αριθμός κάθε ομάδας θα αντιπροσωπεύει και το επίθεμα που χρησιμοποιήθηκε σαν θεραπεία, στην αντίστοιχη ομάδα, σύμφωνα με τον συμβολισμό που υποδεικνύει ο **Πίνακας 6**.

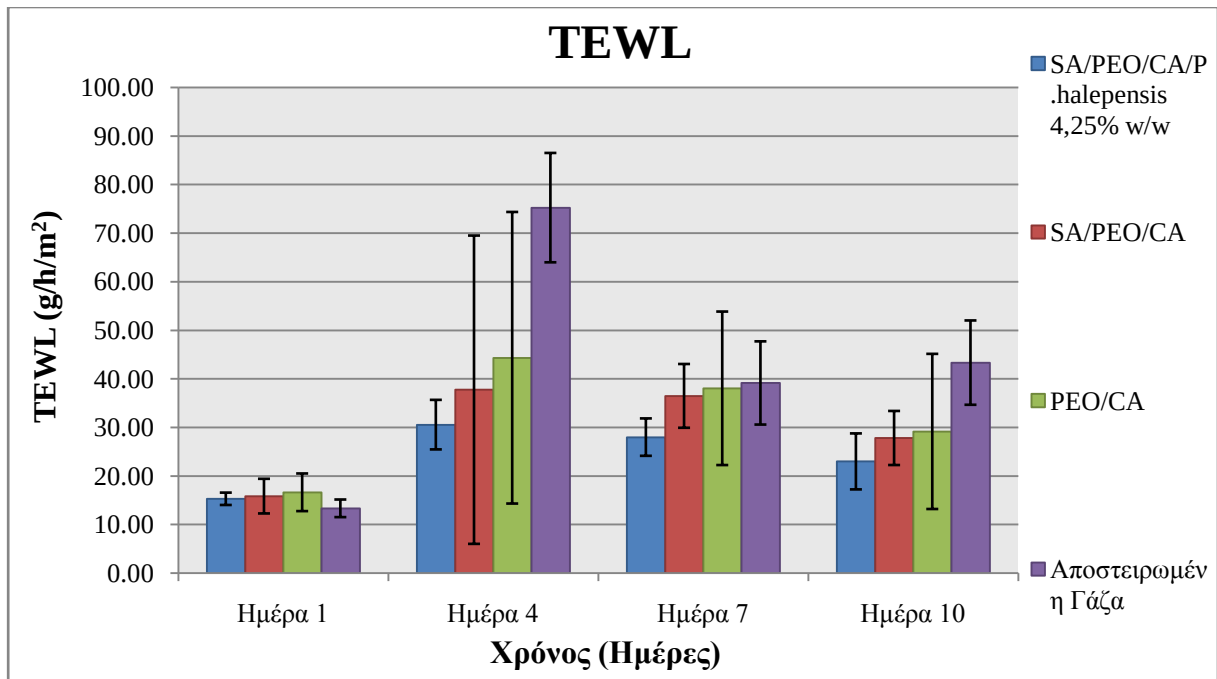
Πίνακας 6. Αντιστοιχία ομάδων πειράματος με το αντίστοιχο επίθεμα που χρησιμοποιήθηκε σαν θεραπεία στην καθεμιά.

Ομάδα	Επίθεμα
1	SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 8,2% w/w
2	SA/PEO/CA
3	PEO/CA
4 (Control)	Αποστειρωμένη Γάζα

Πίνακας 7. Μέσος όρος τιμών της TEWL ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	15,28 ($\pm 1,27$)	30,55 ($\pm 5,10$)	27,98 ($\pm 3,85$)	22,98 ($\pm 5,76$)
2	15,83 ($\pm 3,57$)	50,47 ($\pm 31,74$)	36,47 ($\pm 6,57$)	27,80 ($\pm 5,57$)
3	16,62 ($\pm 3,87$)	54,63 ($\pm 30,02$)	38,03 ($\pm 1,27$)	29,15 ($\pm 1,27$)
4 (Control)	13,32 ($\pm 1,81$)	75,23 ($\pm 11,26$)	39,13 ($\pm 8,57$)	43,32 ($\pm 8,68$)

Διάγραμμα 1. Μεταβολή της TEWL σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:.



Πίνακας 8. Ποσοστιαία μεταβολή της TEWL σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	34%
2	42%
3	43%
4 (Control)	69%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της TEWL ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 9**.

Πίνακας 9. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής TEWL.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,200	0,200	0,200	0,200	0,748	0,474	0,581	0,421
2	0,200	0,200	0,200	0,200	0,174	0,888	0,906	0,416
3	0,154	0,190	0,200	0,032	0,086	0,245	0,904	0,035
4 (Control)	0,200	0,013	0,200	0,200	0,467	0,035	0,348	0,834

Στον **Πίνακα 9** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή TEWL ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 10**.

Πίνακας 10. Paired t-test για τη σύγκριση της TEWL μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα.

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-19,68	-10,86	0,000*
	1-7	-16,73	-8,67	0,000*
	1-10	-13,27	-2,13	0,016*
	4-7	-2,55	7,68	0,254
	4-10	2,84	12,30	0,009*
	7-10	-1,07	11,07	0,088
2	1-4	-66,85	-2,42	0,040*
	1-7	-27,10	-14,16	0,000*
	1-10	-19,54	-4,39	0,010*
	4-7	-22,28	50,28	0,367
	4-10	-11,27	56,60	0,147
	7-10	-2,81	20,14	0,110
3	1-4	-69,70	-6,34	0,027*
	1-7	-38,72	-4,11	0,024*
	1-10	-31,52	6,45	0,150
	4-7	-11,05	44,25	0,183
	4-10	5,63	45,34	0,022*
	7-10	-10,59	28,35	0,294
4 (Control)	1-4	-75,30	-48,53	0,000*
	1-7	-35,32	-16,31	0,001*
	1-10	-39,49	-20,51	0,000*
	4-7	20,60	51,60	0,002*
	4-10	16,08	47,75	0,004*
	7-10	-20,05	11,69	0,528

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 11**.

Πίνακας 11. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της TEWL τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,742
	1-3		0,428
	2-3		0,640
	1-4(Control)		0,247
	2-4(Control)		0,143
	3-4(Control)		0,059
4	1-2	LSD	0,445
	1-3		0,286
	2-3		0,989
	1-4(Control)		0,014*
	2-4(Control)		0,264
	3-4(Control)		0,416
7	1-2	LSD	0,148
	1-3		0,090
	2-3		0,784
	1-4(Control)		0,062
	2-4(Control)		0,641
	3-4(Control)		0,847
10	1-2	LSD	0,411
	1-3		0,295
	2-3		0,816
	1-4(Control)		0,002*
	2-4(Control)		0,014*
	3-4(Control)		0,023*

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις *στατιστικής διαφοροποίησης* μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 1 & Πίνακες 4-9**) που αφορούν στην TEWL διαπιστώνεται ότι:

- Η πορεία των τιμών της TEWL σε όλες τις ομάδες έως την 4η ημέρα (έξαρση φλεγμονής) είναι ανοδική ενώ από την 7η ημέρα οι τιμές ακολουθούν καθοδική πορεία (**Διάγραμμα 1**).
- Σε όλες τις ομάδες, η 1η ημέρα (πριν την ακτινοβολήση) με την 4η ($p=0,000$, $p=0,040$, $p=0,027$, $p=0,000$) και με τη 10η (τέλος πειράματος) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι τη 10η ημέρα υπάρχει βελτίωση της TEWL σε σύγκριση με την 4η

ημέρα ($p=0,009$, $p=0,022$, $p=0,004$) παρόλο που ο επιδερμικός φραγμός δεν επανέρχεται πλήρως στη φυσιολογική του κατάσταση (τιμές ημέρας 1) (**Πίνακας 10 & Διάγραμμα 1**).

- Τη μεγαλύτερη αύξηση της TEWL εμφάνισε η ομάδα των μαρτύρων, ακολουθούμενη από την ομάδα 3 (**Πίνακας 8 & Διάγραμμα 1**).
- Την 4η ημέρα, τη μεγαλύτερη αύξηση της TEWL παρουσιάζει η ομάδα Control που διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την ομάδα 1 (επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) ($p=0,014$) που εμφανίζει αντίστοιχα τα χαμηλότερα επίπεδα TEWL, ενώ διαφέρει και από τις ομάδες 2, 3 (**Πίνακας 11 & Διάγραμμα 1**).
- Κατά συνέπεια, την 4η ημέρα, μεγαλύτερη επιδείνωση της βλάβης παρουσιάζει η ομάδα 4 (Control), καθώς είναι η μόνη που δεν λαμβάνει κάποια θεραπεία ενώ την καλύτερη εικόνα δίνουν οι ομάδες 1 (επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) και 2 (επίθεμα με SA/PEO/CA). Πιθανότατα, η δραστική ουσία *P. halepensis* παρουσιάζει ιδιότητες που αναστέλλουν (και ενδεχομένως προλαμβάνουν) την εμφάνιση της φλεγμονής στα αρχικά στάδια (**Πίνακας 11 & Διάγραμμα 1**).
- Τη 10η ημέρα οι ομάδες 1 (επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) ($p=0,002$), 2 (επίθεμα με SA/PEO/CA) ($p=0,014$) και 3 (επίθεμα με PEO/CA) ($p=0,023$) εμφανίζουν σημαντικά μικρότερες τιμές TEWL σε σύγκριση με την ομάδα Control (**Πίνακας 11**).

Καταλήγοντας, συμπεραίνεται ότι η ομάδα των μαρτύρων Control εμφανίζει τη μεγαλύτερη βλάβη καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

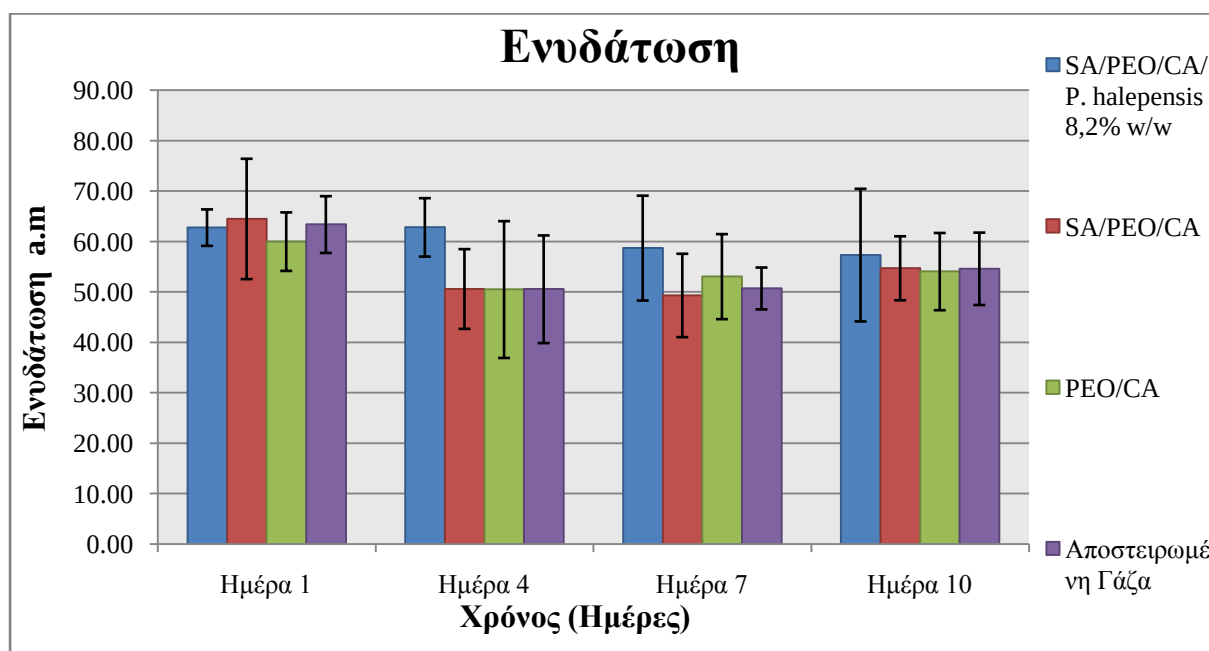
11.1.2. Αποτελέσματα Ενυδάτωσης

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ενυδάτωσης στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον **Πίνακα 12** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 2**.

Πίνακας 12. Μέσος όρος τιμών της Ενυδάτωσης ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	62,78 ($\pm 3,62$)	62,83 ($\pm 5,79$)	58,72 ($\pm 10,39$)	57,33 ($\pm 13,15$)
2	64,50 ($\pm 11,93$)	50,61 ($\pm 7,90$)	49,33 ($\pm 8,27$)	54,72 ($\pm 6,34$)
3	60,00 ($\pm 5,80$)	50,50 ($\pm 13,57$)	53,06 ($\pm 8,43$)	54,06 ($\pm 7,66$)
4 (Control)	63,39 ($\pm 5,63$)	50,56 ($\pm 10,67$)	50,72 ($\pm 4,15$)	54,61 ($\pm 7,18$)

Διάγραμμα 2. Μεταβολή της ενυδάτωσης σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 13. Ποσοστιαία μεταβολή της ενυδάτωσης σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	-9%
2	-15%
3	-10%
4 (Control)	-14%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της ενυδάτωσης ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 14**.

Πίνακας 14. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής της ενυδάτωσης.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,200	0,200	0,200	0,200	0,190	0,521	0,657	0,994
2	0,066	0,106	0,200	0,189	0,026	0,094	0,196	0,226
3	0,094	0,200	0,200	0,200	0,060	0,615	0,764	0,432
4 (Control)	0,014	0,200	0,200	0,200	0,028	0,875	0,263	0,393

Στον **Πίνακα 14** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή ενυδάτωσης ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 15**.

Πίνακας 15. Paired t-test για τη σύγκριση της ενυδάτωσης μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα.

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-7,53	7,42	0,985
	1-7	-7,77	15,89	0,419
	1-10	-8,05	18,94	0,347
	4-7	-3,10	11,32	0,203
	4-10	-5,05	16,05	0,238
	7-10	-6,65	9,43	0,676
2	1-4	-3,62	31,40	0,097
	1-7	-2,39	32,72	0,077
	1-10	-1,13	20,69	0,069
	4-7	-7,52	10,08	0,724
	4-10	-11,49	3,27	0,212
	7-10	-16,37	5,60	0,263
3	1-4	-6,57	25,57	0,189
	1-7	-3,83	17,72	0,158
	1-10	-0,37	12,26	0,060
	4-7	-23,66	18,54	0,768
	4-10	-22,26	15,15	0,646
	7-10	-10,49	8,49	0,797
4 (Control)	1-4	0,14	25,53	0,048*
	1-7	4,75	20,59	0,009*
	1-10	1,46	16,09	0,027*
	4-7	-9,41	9,07	0,965
	4-10	-15,62	7,51	0,409
	7-10	-9,53	1,75	0,136

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 16**.

Πίνακας 16. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της ενυδάτωσης τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,692
	1-3		0,525
	2-3		0,307
	1-4(Control)		0,888
	2-4(Control)		0,798
	3-4(Control)		0,439
4	1-2	LSD	0,045*
	1-3		0,044*
	2-3		0,985
	1-4(Control)		0,045*
	2-4(Control)		0,992
	3-4(Control)		0,992
7	1-2	LSD	0,059
	1-3		0,242
	2-3		0,437
	1-4(Control)		0,104
	2-4(Control)		0,770
	3-4(Control)		0,625
10	1-2	LSD	0,620
	1-3		0,535
	2-3		0,899
	1-4(Control)		0,606
	2-4(Control)		0,983
	3-4(Control)		0,916

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις *στατιστικής διαφοροποίησης* μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 2 & Πίνακες 12-16**) που αφορούν στην Ενυδάτωση διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη μείωση της ενυδάτωσης εμφάνισαν η ομάδα 2 και η ομάδα των μαρτύρων (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA, ομάδα Control) (**Πίνακας 13 & Διάγραμμα 2**).

➤ Η ομάδα 4 (Control) παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών 1 με 4, 1 με 7 και 1 με 10 ($p = 0,048$, $p = 0,009$, $p = 0,027$) καθώς μειώνεται αρκετά η ενυδάτωση του δέρματος των μυών (στις ομάδες 2,3,4) λόγω της φλεγμονής ενώ στο τέλος του πειράματος επανέρχεται στο μεγαλύτερο ποσοστό τους. Στις υπόλοιπες ομάδες (ομάδα με επίθεμα P.

halepensis, ομάδα με επίθεμα SA/PEO/CA, ομάδα με επίθεμα PEO/CA) φαίνεται ότι η μείωση αρχικά και μετά η αύξηση της ενυδάτωσης δεν ήταν στατιστικά σημαντική (**Πίνακας 15 & Διάγραμμα 2**).

➤ Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) εμφανίζει τη μεγαλύτερη ενυδάτωση σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες ενώ οι ομάδες 2,3,4 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA, ομάδα με επίθεμα PEO/CA, ομάδα Control) έχουν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ενυδάτωσης ($p=0,045$, $p=0,044$, $p=0,045$) (**Πίνακας 16 & Διάγραμμα 2**).

➤ Την 7η ημέρα που αρχίζει η φλεγμονή να υποχωρεί, η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) παρουσιάζει τα μεγαλύτερα επίπεδα ενυδάτωσης σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες (**Πίνακας 16 & Διάγραμμα 2**).

➤ Τέλος, τη 10η ημέρα η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ενυδάτωση από όλες τις ομάδες (**Πίνακας 12 & Διάγραμμα 2**).

➤ Σε γενικές γραμμές, η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) παρουσιάζει καλύτερα επίπεδα ενυδάτωσης συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες που βρισκόντουσαν περίπου στα ίδια επίπεδα, εκτός από την ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) την 7η ημέρα (**Πίνακας 12 & Διάγραμμα 2**).

➤ Συνοπτικά, η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) παρουσιάζει τη μικρότερη μείωση ενυδάτωσης η οποία μεταβάλλεται κατά 10% έναντι 16% της ομάδας Control και 18% της ομάδας με το επίθεμα PEO/CA (**Πίνακας 13 & Διάγραμμα 2**).

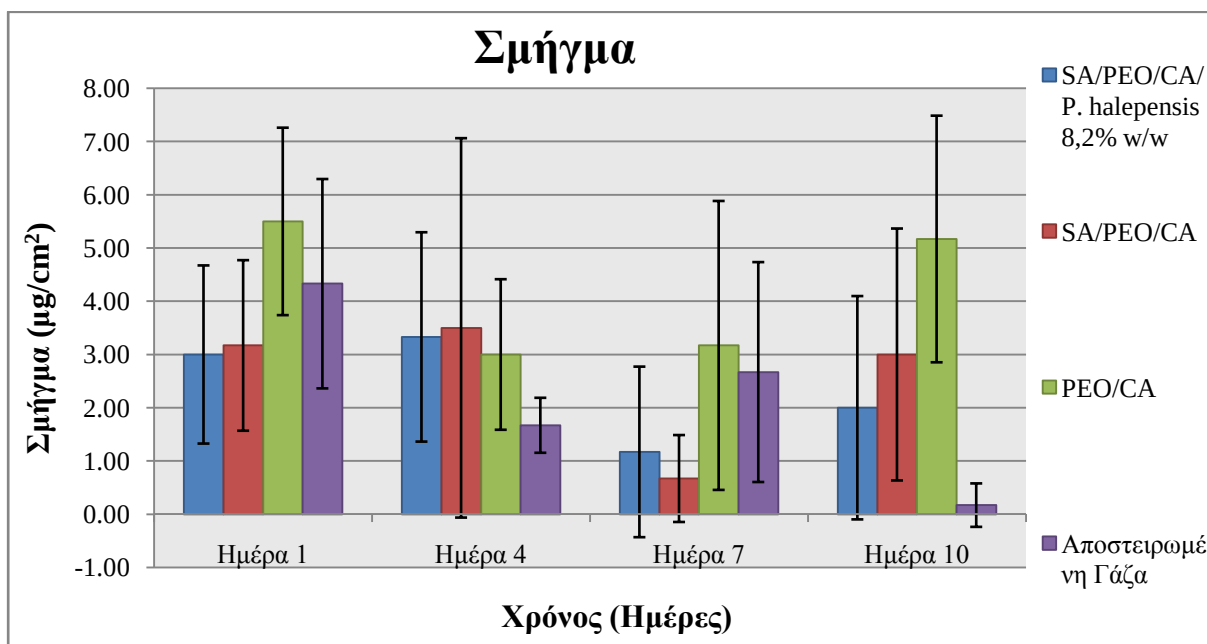
11.1.3. Αποτελέσματα Σμήγματος

Μια διαταραχή ή πάθηση στο δέρμα, όπως η φλεγμονή, μπορεί να επηρεάσει την ποσότητα σμήγματος που παράγει το δέρμα υπό φυσιολογικές συνθήκες. Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του σμήγματος στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον **Πίνακα 17** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 3**.

Πίνακας 17. Μέσος όρος τιμών της Σμήγματος ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	3,00 ($\pm 1,67$)	3,33 ($\pm 1,97$)	1,17 ($\pm 1,60$)	2,00 ($\pm 2,10$)
2	3,17 ($\pm 1,60$)	3,50 ($\pm 3,56$)	0,67 ($\pm 0,82$)	3,00 ($\pm 2,37$)
3	5,50 ($\pm 1,76$)	3,00 ($\pm 1,41$)	3,17 ($\pm 2,71$)	5,17 ($\pm 2,32$)
4 (Control)	4,33 ($\pm 1,97$)	1,67 ($\pm 0,52$)	2,67 ($\pm 2,07$)	0,17 ($\pm 0,41$)

Διάγραμμα 3. Μεταβολή του σμήγματος σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 18. Ποσοστιαία μεταβολή του σμήγματος σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	-33%
2	-5%
3	-6%
4 (Control)	-96%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές του σμήγματος ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 19**.

Πίνακας 19. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής του σμήγματος.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,004	0,000	0,200	0,036	0,006	0,557	0,070	0,075
2	0,200	0,200	0,117	0,200	0,425	0,112	0,091	0,739
3	0,094	0,200	0,200	0,080	0,505	0,960	0,445	0,094
4 (Control)	0,094	0,002	0,200	0,000	0,035	0,001	0,493	0,000

Στον **Πίνακα 19** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή σμήγματος ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 20**.

Πίνακας 20. Paired t-test για τη σύγκριση του σμήγματος μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα.

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-2,70	2,03	0,732
	1-7	-0,51	4,17	0,100
	1-10	-2,51	4,51	0,497
	4-7	-0,68	5,02	0,108
	4-10	-2,22	4,89	0,379
	7-10	-3,90	2,24	0,517
2	1-4	-3,56	2,90	0,801
	1-7	0,54	4,46	0,022*
	1-10	-2,35	2,69	0,872
	4-7	-1,39	7,05	0,145
	4-10	-2,73	3,73	0,707
	7-10	-4,70	0,03	0,052
3	1-4	0,43	4,57	0,027*
	1-7	0,27	4,40	0,034*
	1-10	-2,76	3,42	0,793
	4-7	-3,09	2,76	0,889
	4-10	-3,97	-0,36	0,027*
	7-10	-5,75	1,75	0,229
4 (Control)	1-4	0,80	4,87	0,016*
	1-7	-0,09	3,76	0,058
	1-10	2,62	6,05	0,001*
	4-7	-3,39	1,39	0,332
	4-10	0,93	2,07	0,001*
	7-10	0,54	4,46	0,022*

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 21**.

Πίνακας 21. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών του σμήγματος τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,871
	1-3		0,023*
	2-3		0,032*
	1-4(Control)		0,203
	2-4(Control)		0,263
	3-4(Control)		0,263
4	1-2	LSD	0,895
	1-3		0,793
	2-3		0,694
	1-4(Control)		0,198
	2-4(Control)		0,159
	3-4(Control)		0,300
7	1-2	LSD	0,658
	1-3		0,087
	2-3		0,036*
	1-4(Control)		0,193
	2-4(Control)		0,087
	3-4(Control)		0,658
10	1-2	LSD	0,390
	1-3		0,011*
	2-3		0,071
	1-4(Control)		0,123
	2-4(Control)		0,022*
	3-4(Control)		0,000*

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις *στατιστικής διαφοροποίησης* μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 3 & Πίνακες 17-21**) που αφορούν στο σμήγμα διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη μείωση σμήγματος εμφάνισε η ομάδα των μαρτύρων (ομάδα με επίθεμα με ομάδα Control) (**Πίνακας 18 & Διάγραμμα 3**).

➤ Η ομάδα 4 (Control) παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών 10 με τις 1, 4 και 7 ($p=0,001$, $p=0,022$) και μεταξύ των ημερών 1 και 4 ($p=0,016$) καθώς μειώνεται σημαντικά το σμήγμα του δέρματος των μυών λόγω της ύπαρξης φλεγμονής σε σχέση με τις άλλες ομάδες (ομάδες 2,3,4) ενώ στο τέλος του πειράματος επανέρχεται στο μεγαλύτερο

ποσοστό τους σχεδόν σε όλες τις ομάδες εκτός από αυτή των μαρτύρων που τη 10η μέρα φαίνεται να μην παράγει σχεδόν καθόλου σμήγμα. Στις υπόλοιπες ομάδες (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 8,2% w/w, ομάδα με επίθεμα SA/PEO/CA, ομάδα με επίθεμα PEO/CA) φαίνεται ότι η μείωση αρχικά και μετά η αύξηση της ενυδάτωσης δεν ήταν στατιστικά σημαντική (**Πίνακας 20 & Διάγραμμα 3**).

➤ Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) και η ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα SA/PEO/CA) εμφανίζει τη λιγότερη μείωση σμήγματος (περισσότερο σμήγμα ενδεχομένως λόγω της παρουσίας του SA στα επιθέματα) σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες ενώ οι ομάδες 2,3,4 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA, ομάδα με επίθεμα PEO/CA, ομάδα Control) έχουν χαμηλότερα επίπεδα σμήγματος (**Πίνακας 21 & Διάγραμμα 3**).

➤ Την 7η ημέρα που αρχίζει η φλεγμονή να υποχωρεί, η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) παρουσιάζει τα μεγαλύτερα επίπεδα σμήγματος σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες και στατιστικά σημαντική διαφορά επιπέδων σμήγματος με την ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) ($p=0,036$) (**Πίνακας 21 & Διάγραμμα 3**).

➤ Τέλος, τη 10η ημέρα η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis*) παρουσιάζει το υψηλότερο επίπεδο σμήγματος από όλες τις ομάδες (**Πίνακας 21 & Διάγραμμα 2**).

➤ Σε γενικές γραμμές, η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) παρουσιάζει χαμηλότερα επίπεδα σμήγματος συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες, ειδικά με την ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) που η διαφορά τους θεωρείται στατιστικά σημαντική ($p=0,011$). Ακόμη, σημαντική διαφοροποίηση προκύπτει μεταξύ των τιμών της ομάδας Control με τις ομάδες 2,3 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA, ομάδα με επίθεμα PEO/CA) ($p=0,022$, $p=0,000$) όπως φαίνεται και στη στατιστική αξιολόγηση στον πίνακα 19 (**Πίνακας 21 & Διάγραμμα 3**).

➤ Συνοπτικά, οι ομάδες 2,3 (ομάδες με επίθεμα με SA/PEO/CA και με επίθεμα PEO/CA αντίστοιχα) παρουσίασαν τη μικρότερη μείωση σμήγματος η οποία μεταβλήθηκε κατά 5% και 6% αντίστοιχα έναντι 96% της ομάδας Control και 33% της ομάδας με το επίθεμα *P. halepensis* (**Πίνακας 18 & Διάγραμμα 3**).

11.1.4. Αποτελέσματα Ελαστικότητας

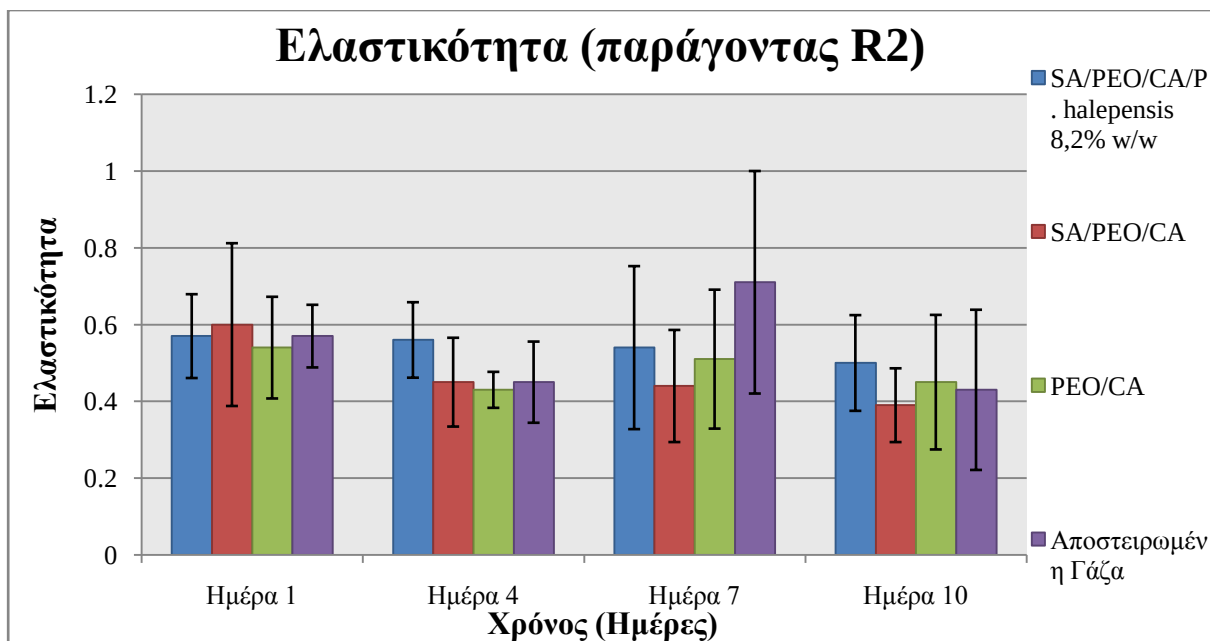
Ο μέσος όρος (M.O.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ελαστικότητας (παράγοντας R2) του δέρματος στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή

(ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον **Πίνακα 22** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 4**.

Πίνακας 22. Μέσος όρος τιμών της ελαστικότητας ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	0,57 ($\pm 0,11$)	0,56 ($\pm 0,10$)	0,54 ($\pm 0,21$)	0,50 ($\pm 0,12$)
2	0,60 ($\pm 0,21$)	0,45 ($\pm 0,12$)	0,44 ($\pm 0,15$)	0,39 ($\pm 0,10$)
3	0,54 ($\pm 0,13$)	0,43 ($\pm 0,05$)	0,51 ($\pm 0,18$)	0,45 ($\pm 0,18$)
4 (Control)	0,57 ($\pm 0,08$)	0,45 ($\pm 0,11$)	0,71 ($\pm 0,29$)	0,43 ($\pm 0,21$)

Διάγραμμα 4. Μεταβολή της ελαστικότητας σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 23. Ποσοστιαία μεταβολή της ελαστικότητας σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	-12%
2	-35%
3	-17%
4 (Control)	-25%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της ελαστικότητας ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 24**.

Πίνακας 24. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητή της ελαστικότητας.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,184	0,200	0,200	0,200	0,115	0,392	0,354	0,848
2	0,066	0,200	0,132	0,200	0,210	0,249	0,146	0,358
3	0,200	0,200	0,200	0,114	0,427	0,836	0,924	0,086
4 (Control)	0,134	0,038	0,082	0,200	0,448	0,006	0,027	0,080

Στον **Πίνακα 24**, φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή ελαστικότητας ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 25**.

Πίνακας 25. Paired t-test για τη σύγκριση της ελαστικότητας μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα.

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-0,13	0,14	0,903
	1-7	-0,19	0,25	0,747
	1-10	-0,06	0,19	0,216
	4-7	-0,17	0,21	0,775
	4-10	-0,03	0,15	0,155
	7-10	-0,09	0,17	0,474
2	1-4	-0,14	0,42	0,249
	1-7	-0,21	0,51	0,331
	1-10	-0,04	0,46	0,081
	4-7	-0,18	0,20	0,892
	4-10	-0,01	0,14	0,068
	7-10	-0,13	0,25	0,471
3	1-4	-0,05	0,26	0,131
	1-7	-0,16	0,22	0,725
	1-10	-0,17	0,35	0,424
	4-7	-0,29	0,13	0,382
	4-10	-0,21	0,17	0,811
	7-10	-0,17	0,29	0,520
4 (Control)	1-4	-0,03	0,29	0,099
	1-7	-0,52	0,25	0,401
	1-10	-0,05	0,35	0,119
	4-7	-0,52	-0,01	0,045*
	4-10	-0,29	0,33	0,870
	7-10	-0,17	0,73	0,166

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 26**.

Πίνακας 26. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της ελαστικότητας τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,765
	1-3		0,689
	2-3		0,487
	1-4(Control)		0,973
	2-4(Control)		0,792
	3-4(Control)		0,664
4	1-2	LSD	0,061
	1-3		0,024*
	2-3		0,649
	1-4(Control)		0,048*
	2-4(Control)		0,901
	3-4(Control)		0,740
7	1-2	LSD	0,441
	1-3		0,796
	2-3		0,606
	1-4(Control)		0,187
	2-4(Control)		0,044*
	3-4(Control)		0,119
10	1-2	LSD	0,213
	1-3		0,553
	2-3		0,503
	1-4(Control)		0,411
	2-4(Control)		0,659
	3-4(Control)		0,816

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 4 & Πίνακες 22-26**) που αφορούν στην Ενυδάτωση διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη μείωση της ελαστικότητας εμφάνισε η ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) (**Πίνακας 23 & Διάγραμμα 4**).

➤ Η ομάδα 4 (Control) παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών 4 με 7 ($p=0,045$) καθώς μειώνεται αρκετά η ελαστικότητα του δέρματος των μυών σε σχέση με τις άλλες ομάδες (ομάδες 2,3,4) λόγω της φλεγμονής ενώ στο τέλος του πειράματος επανέρχεται στο μεγαλύτερο ποσοστό τους. Στις υπόλοιπες ομάδες (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 8,2%

w/w, ομάδα με επίθεμα SA/PEO/CA, ομάδα με επίθεμα PEO/CA) φαίνεται ότι η μείωση αρχικά και μετά η αύξηση της ενυδάτωσης δεν ήταν στατιστικά σημαντική (**Πίνακας 25 & Διάγραμμα 4**).

➤ Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) εμφανίζει τη μεγαλύτερη ελαστικότητα σε σχέση με τις ομάδες 3,4 ($p=0,024$, $p=0,048$) ενώ οι ομάδες 2,3,4 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA, ομάδα με επίθεμα PEO/CA, ομάδα Control) έχουν χαμηλότερα επίπεδα ελαστικότητας (**Πίνακας 26 & Διάγραμμα 4**).

➤ Την 7η ημέρα που αρχίζει η φλεγμονή να υποχωρεί, η ομάδα 4 (ομάδα Control) παρουσιάζει τα μεγαλύτερα επίπεδα ελαστικότητας σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες (**Πίνακας 26 & Διάγραμμα 4**).

➤ Ακόμη, την 7η μέρα η ομάδα 4 (ομάδα Control) δείχνει σημαντική στατιστική διαφοροποίηση στις τιμές της ελαστικότητας σε σχέση με την ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) ($p=0,044$) (**Πίνακας 26 & Διάγραμμα 4**).

➤ Τέλος, τη 10η ημέρα η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) εμφανίζει τη μεγαλύτερη ελαστικότητα από όλες τις ομάδες (**Πίνακας 26 & Διάγραμμα 2**).

➤ Σε γενικές γραμμές, η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) παρουσιάζει καλύτερα επίπεδα ελαστικότητας συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες που βρισκόντουσαν περίπου στα ίδια επίπεδα, εκτός από την ομάδα 4 (Control) την 7η ημέρα (**Πίνακας 26 & Διάγραμμα 4**).

➤ Συνοπτικά, η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) παρουσιάζει τη μικρότερη μείωση ελαστικότητας η οποία μεταβάλλεται κατά 12% έναντι 17% της ομάδας 3 και 25% της ομάδας των μαρτύρων (**Πίνακας 23 & Διάγραμμα 4**).

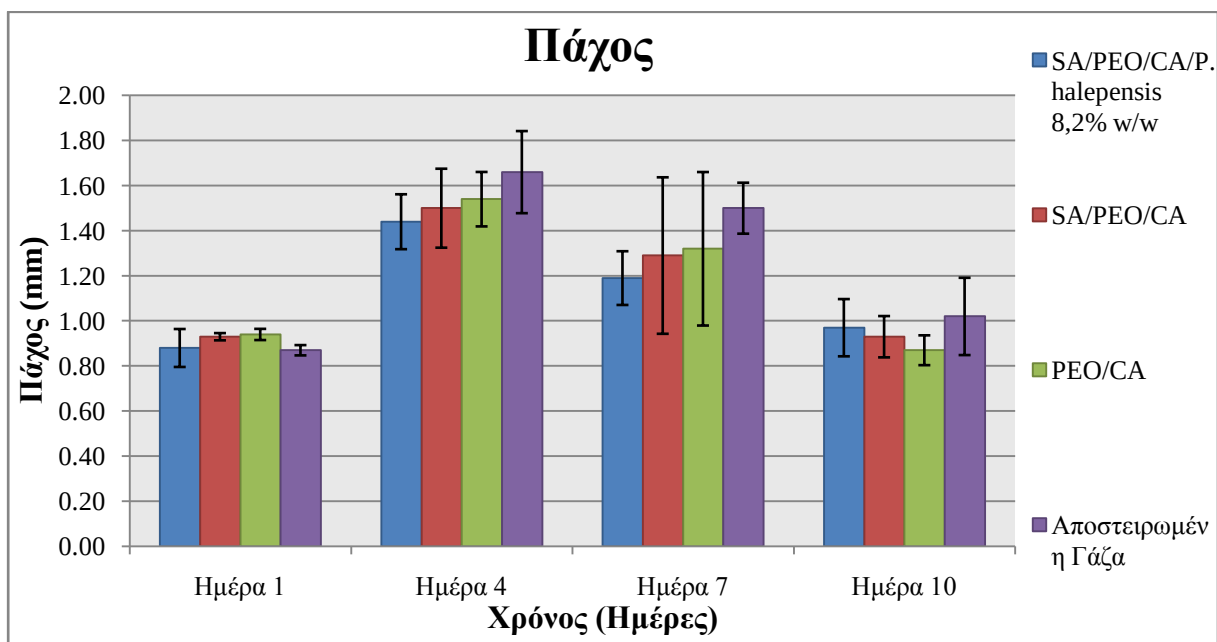
11.1.5. Αποτελέσματα Πάχους

Ο μέσος όρος (M.O.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του πάχους του δέρματος στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον **Πίνακα 27** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 5**.

Πίνακας 27. Μέσος όρος τιμών του πάχους ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	0,88 ($\pm 0,08$)	1,44 ($\pm 0,12$)	1,19 ($\pm 0,12$)	0,97 ($\pm 0,13$)
2	0,93 ($\pm 0,02$)	1,50 ($\pm 0,18$)	1,29 ($\pm 0,35$)	0,93 ($\pm 0,09$)
3	0,94 ($\pm 0,02$)	1,54 ($\pm 0,12$)	1,32 ($\pm 0,34$)	0,87 ($\pm 0,07$)
4 (Control)	0,87 ($\pm 0,02$)	1,66 ($\pm 0,18$)	1,50 ($\pm 0,11$)	1,02 ($\pm 0,17$)

Διάγραμμα 5. Μεταβολή του πάχους σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 28. Ποσοστιαία μεταβολή του πάχους σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	9%
2	0%
3	-7%
4 (Control)	15%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές του πάχους ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 29**.

Πίνακας 29. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής πάχους.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,001	0,200	0,011	0,200	0,001	0,595	0,050	0,897
2	0,200	0,116	0,012	0,116	0,425	0,079	0,028	0,081
3	0,200	0,122	0,022	0,200	0,794	0,113	0,022	0,438
4 (Control)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,277	0,454	0,989	0,829

Στον **Πίνακα 29** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή του πάχους ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 30**.

Πίνακας 30. Paired t-test για τη σύγκριση του πάχους μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα.

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-0,70	-0,43	0,000*
	1-7	-0,46	-0,16	0,003*
	1-10	-0,19	0,02	0,088
	4-7	0,07	0,44	0,016*
	4-10	0,35	0,60	0,000*
	7-10	0,12	0,33	0,002*
2	1-4	-0,76	-0,37	0,001*
	1-7	-0,73	0,01	0,056
	1-10	-0,10	0,11	0,879
	4-7	-0,12	0,53	0,165
	4-10	0,39	0,75	0,000*
	7-10	0,05	0,68	0,030*
3	1-4	-0,72	-0,47	0,000*
	1-7	-0,75	-0,01	0,047*
	1-10	-0,01	0,15	0,066
	4-7	-0,22	0,65	0,255
	4-10	0,50	0,84	0,000*
	7-10	0,16	0,74	0,011*
4 (Control)	1-4	-0,99	-0,58	0,000*
	1-7	-0,76	-0,50	0,000*
	1-10	-0,31	0,02	0,070
	4-7	-0,04	0,35	0,095
	4-10	0,34	0,93	0,003*
	7-10	0,29	0,67	0,001*

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 31**.

Πίνακας 31. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών του πάχους τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,066
	1-3		0,031*
	2-3		0,711
	1-4(Control)		0,711
	2-4(Control)		0,031*
	3-4(Control)		0,014*
4	1-2	LSD	0,552
	1-3		0,294
	2-3		0,642
	1-4(Control)		0,026*
	2-4(Control)		0,088
	3-4(Control)		0,201
7	1-2	LSD	0,507
	1-3		0,391
	2-3		0,842
	1-4(Control)		0,050*
	2-4(Control)		0,175
	3-4(Control)		0,243
10	1-2	LSD	0,557
	1-3		0,174
	2-3		0,426
	1-4(Control)		0,481
	2-4(Control)		0,203
	3-4(Control)		0,046*

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 6 & Πίνακες 25-31**) που αφορούν στην Ενυδάτωση διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη αύξηση του πάχους (υπερκεράτωση) εμφάνισε η ομάδα 4 (ομάδα Control) ενώ υπήρξαν ομάδες όπου το πάχος του δέρματός τους μειώθηκε όπως στις ομάδες 2,3 (ομάδες με επίθεμα με SA/PEO/CA και PEO/CA) (**Πίνακας 28 & Διάγραμμα 6**).

➤ Η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis*) παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση στο πάχος από την 1η στην 4η και από την 1η στην 7η ημέρα ($p=0,000$, $p=0,004$) καθώς και

σημαντική μείωση από την 4η στην 7η , από την 7η στη 10η ($p=0,016$, $p=0,002$) και από την 4η στη 10η ($p=0,000$) (**Πίνακας 30 & Διάγραμμα 5**).

➤ Η ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) εμφάνισε σημαντική μείωση μεταξύ των ημερών 4-10 ($p=0,000$), 7-10 ($p=0,030$) (**Πίνακας 30 & Διάγραμμα 5**).

➤ Η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) έδειξε μεγάλη άνοδο ανάμεσα στην 1η μέρα και στην 4η ($p=0,000$) καθώς και στην 7η ($p=0,047$) και ουσιαστική πτώση ανάμεσα στη 10η έναντι στην 4η ($p=0,000$) και την 7η ($p=0,011$) (**Πίνακας 30 & Διάγραμμα 5**).

➤ Η ομάδα 4 (Control) παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ημερών 1 με 4 ($p=0,000$) και 1 με 7 ($p=0,000$) καθώς αυξάνεται αρκετά το πάχος του δέρματος των μυών λόγω της φλεγμονής ενώ στο τέλος του πειράματος επανέρχεται σε αρκετά μεγάλο ποσοστό (**Πίνακας 30 & Διάγραμμα 5**).

➤ Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), η ομάδα 4 (Control) εμφανίζει το μεγαλύτερο πάχος σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες ενώ συγκεκριμένα με την ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,026$) (**Πίνακας 31 & Διάγραμμα 5**).

➤ Την 7η ημέρα που αρχίζει η φλεγμονή να υποχωρεί, η ομάδα 4 (Control) παρουσιάζει τα μεγαλύτερα επίπεδα πάχους σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες και ιδιαίτερα με την ομάδα 1 ($p=0,050$) (**Πίνακας 31 & Διάγραμμα 5**).

➤ Τέλος, τη 10η ημέρα (τέλος του πειράματος) η ομάδα 4 (Control) παρουσιάζει το μεγαλύτερο πάχος από όλες τις ομάδες και συγκεκριμένα από την 3 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) έδειξε ότι είναι στατιστικά πολύ υψηλότερο ($p=0,046$) (**Πίνακας 31 & Διάγραμμα 5**).

➤ Σε γενικές γραμμές, στην ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) τα επίπεδα του πάχους του δέρματος των μυών, μετά από την αύξηση λόγω της φλεγμονής επανήλθε στα αρχικά επίπεδα πριν την ακτινοβολήση (μηδενική μεταβολή πάχους) (**Διάγραμμα 5**).

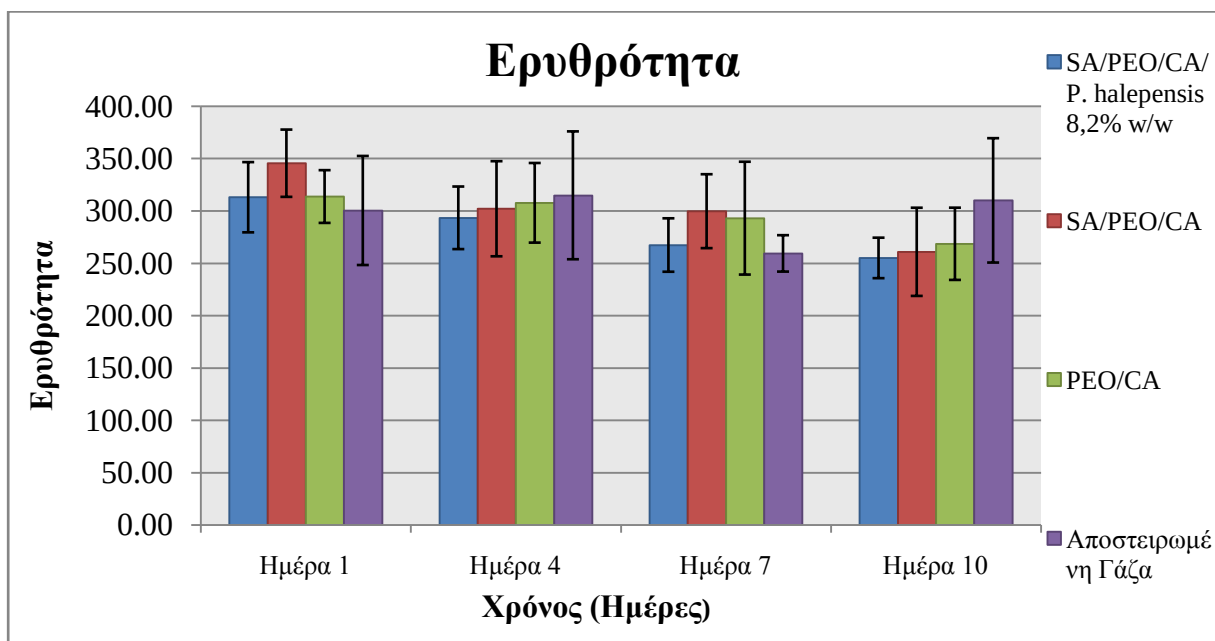
11.5.6. Αποτελέσματα Ερυθρότητας

Ο μέσος όρος (M.O.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ερυθρότητας στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον **Πίνακα 32** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 6**.

Πίνακας 32. Μέσος όρος τιμών της ερυθρότητας ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	313,00 ($\pm 33,56$)	293,33 ($\pm 29,90$)	267,33 ($\pm 25,53$)	255,00 ($\pm 19,34$)
2	345,50 ($\pm 32,14$)	302,00 ($\pm 45,44$)	299,67 ($\pm 35,31$)	260,83 ($\pm 42,13$)
3	313,67 ($\pm 25,19$)	307,67 ($\pm 38,05$)	293,00 ($\pm 53,91$)	268,50 ($\pm 34,51$)
4 (Control)	300,33 ($\pm 52,11$)	314,83 ($\pm 61,09$)	259,33 ($\pm 17,40$)	310,00 ($\pm 59,42$)

Διάγραμμα 6. Μεταβολή της ερυθρότητας σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 33. Ποσοστιαία μεταβολή της ερυθρότητας σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	-19%
2	-25%
3	-14%
4 (Control)	3%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της ερυθρότητας ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 34**.

Πίνακας 34. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής ερυθρότητας.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,200	0,200	0,200	0,200	0,972	0,599	0,666	0,996
2	0,200	0,200	0,200	0,200	0,326	0,529	0,240	0,775
3	0,015	0,076	0,200	0,200	0,015	0,060	0,483	0,943
4 (Control)	0,165	0,200	0,200	0,200	0,167	0,442	0,669	0,651

Στον **Πίνακα 34** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή ερυθρότητας ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 35**.

Πίνακας 35. Paired t-test για τη σύγκριση της ερυθρότητας μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα.

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-34,40	73,74	0,393
	1-7	1,70	89,63	0,044*
	1-10	28,55	87,45	0,004*
	4-7	-23,94	75,94	0,238
	4-10	-6,34	83,01	0,079
	7-10	-21,51	46,17	0,392
2	1-4	-14,39	101,39	0,111
	1-7	-7,67	99,33	0,079
	1-10	36,61	132,72	0,006*
	4-7	-44,40	49,07	0,903
	4-10	2,78	79,55	0,040*
	7-10	-5,29	82,96	0,073
3	1-4	-48,11	60,11	0,787
	1-7	-42,70	84,03	0,440
	1-10	25,11	65,23	0,002*
	4-7	-66,99	96,32	0,664
	4-10	-29,86	108,20	0,205
	7-10	-37,00	86,00	0,353
4 (Control)	1-4	-81,19	52,19	0,600
	1-7	-26,44	108,44	0,179
	1-10	-107,30	87,97	0,809
	4-7	-2,09	113,09	0,056
	4-10	-61,81	71,48	0,859
	7-10	-99,82	-1,52	0,045*

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 36**.

Πίνακας 36. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της ερυθρότητας τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,145
	1-3		0,975
	2-3		0,153
	1-4(Control)		0,561
	2-4(Control)		0,048*
	3-4(Control)		0,541
4	1-2	LSD	0,552
	1-3		0,294
	2-3		0,642
	1-4(Control)		0,026*
	2-4(Control)		0,088
	3-4(Control)		0,201
7	1-2	LSD	0,133
	1-3		0,228
	2-3		0,750
	1-4(Control)		0,702
	2-4(Control)		0,065
	3-4(Control)		0,118
10	1-2	LSD	0,810
	1-3		0,579
	2-3		0,752
	1-4(Control)		0,032*
	2-4(Control)		0,053
	3-4(Control)		0,098

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 5 & Πίνακες 32-36**) που αφορούν στην ερυθρότητα διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη μείωση της ερυθρότητας εμφάνισε η ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) κατά 25% και ακολούθησε η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 8,2% w/w) κατά 19% (**Πίνακας 33 & Διάγραμμα 5**).

➤ Στην ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 8,2% w/w) η ερυθρότητα είναι μειωμένη αισθητά την 7η (p=0,044) μέρα και την 10η (p=0,004) μέρα σε σχέση με τη φυσιολογική του δέρματος των μυών της 1ης μέρας (**Πίνακας 35 & Διάγραμμα 5**).

- Στην ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) εμφανίζεται σημαντική στατιστική διαφοροποίηση και πτώση μεταξύ των ημερών 1-10 ($p=0,006$) και 4-10 ($p=0,040$) (**Πίνακας 35 & Διάγραμμα 5**).
- Στην ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA), επίσης, υπάρχει σημαντική μείωση του ερυθρήματος από την 1η στη 10η μέρα ($p=0,002$) (**Πίνακας 35 & Διάγραμμα 5**).
- Η 4η ομάδα, λόγω της δερματίτιδας από τη φλεγμονή, είχε τη μέγιστη στατιστικά ερυθρότητα μέχρι το τέλος του πειράματος (10η μέρα) και μάλιστα σε σχέση με την 7η μέρα η διαφορά ήταν ιδιαίτερα σημαντική ($p=0,045$) (**Πίνακας 35 & Διάγραμμα 5**).
- Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), η ομάδα 4 (Control) εμφανίζει τη μεγαλύτερη ερυθρότητα ενώ η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) έχει το λιγότερο ερύθημα, με σημαντική διαφορά από την 4 ($p=0,026$) (**Πίνακας 36 & Διάγραμμα 5**).
- Τέλος, τη 10η ημέρα η ομάδα 4 (Control) εξακολουθεί να έχει το πιο έντονο ερύθημα από όλες τις ομάδες, λόγω και της απουσίας θεραπείας σε αυτή την ομάδα ενώ η σημαντική στατιστική διαφοροποίηση με την ομάδα 1 ($p=0,032$) συνέχισε να υφίσταται μέχρι το τέλος του πειράματος (**Πίνακας 36 & Διάγραμμα 5**).

11.5.7. Φωτοτεκμηρίωση

Καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος ελήφθησαν φωτογραφίες από όλα τα ζώα της κάθε ομάδας. Από αυτές 2 ενδεικτικές φωτογραφίες από κάθε ομάδα που πάρθηκαν στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες, ημέρα 3-ακτινοβολημένοι μύες), στη μέση (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) παρατίθενται στην **Εικόνα 20**.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΕΣ				
	1 (Πριν τη UV)	3	4	7	10
SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 8,2% w/w					
					
SA/PEO/CA					
					
PEO/CA					
					
Αποστειρωμένη Γάζα					
					

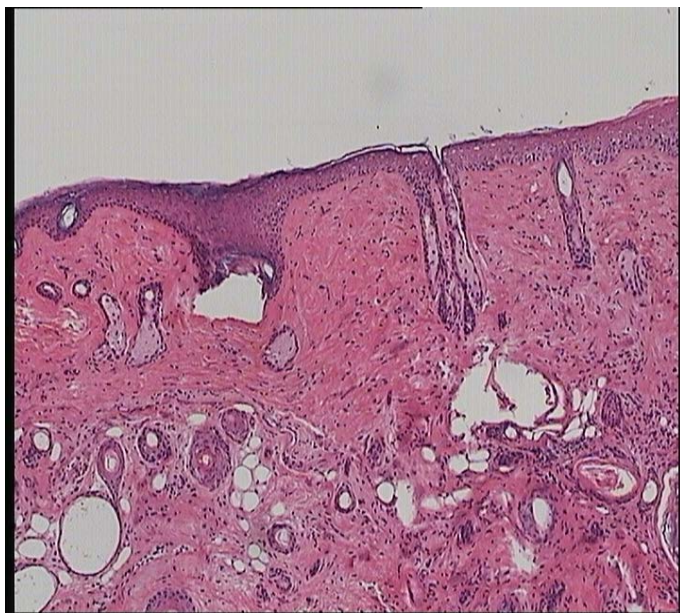
Εικόνα 20. Ενδεικτικές φωτογραφίες κάθε ομάδας τις ημέρες 1, 3, 4, 7, και 10.

Από τη μελέτη της κατάστασης του δέρματος (ερύθημα, οίδημα, ξηροδερμία) των αντίστοιχων πειραματοζώων (ενδεικτικές φωτογραφίες στην Εικόνα 20) συμπεραίνεται ότι:

- Την ημέρα 3 μετά την ακτινοβόληση, έχουν αρχίσει να φαίνονται σταδιακά στοιχεία φλεγμονής, κυρίως ερύθημα, στις ομάδες 2,3 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA και ομάδα με επίθεμα PEO/CA) ενώ στην ομάδα 4 (Control) των μαρτύρων παρατηρήθηκε και ερύθημα και οίδημα.
- Την 4η ημέρα (έξαρση φλεγμονής) παρατηρείται εμφάνιση διάχυτης ερυθρότητας, ξηροδερμίας και οίδημα εμφανίζεται πλέον σχεδόν σε όλες τις ομάδες (ομάδες 2,3,4). Καλύτερη κλινική εικόνα παρουσιάζει η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) ενώ οι μάρτυρες (Control) τη χειρότερη.
- Την 7η ημέρα το οίδημα αρχίζει να υποχωρεί. Σε όλες τις ομάδες η ένταση του ερυθήματος έχει αυξηθεί ενώ η ερυθρότητα είναι πλέον εντοπισμένη. Τη χειρότερη εικόνα δείχνουν οι ομάδες 3 και 4 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA, ομάδα Control).
- Τη 10η και τελευταία ημέρα, το δέρμα των μυών της ομάδας 1 έχει σχεδόν επανέλθει στη φυσιολογική του κατάσταση ενώ των υπόλοιπων ομάδων συνεχίζει να φέρει σημάδια δερματοπάθειας, με εντονότερα στο δέρμα της ομάδας των μαρτύρων.
- Συνολικά, την καλύτερη κλινική εικόνα επέδειξε η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) με μικρή διαφορά από την ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) ενώ τη μεγαλύτερη επιδείνωση κατά τη διάρκεια του πειράματος εμφάνισε η ομάδα Control.

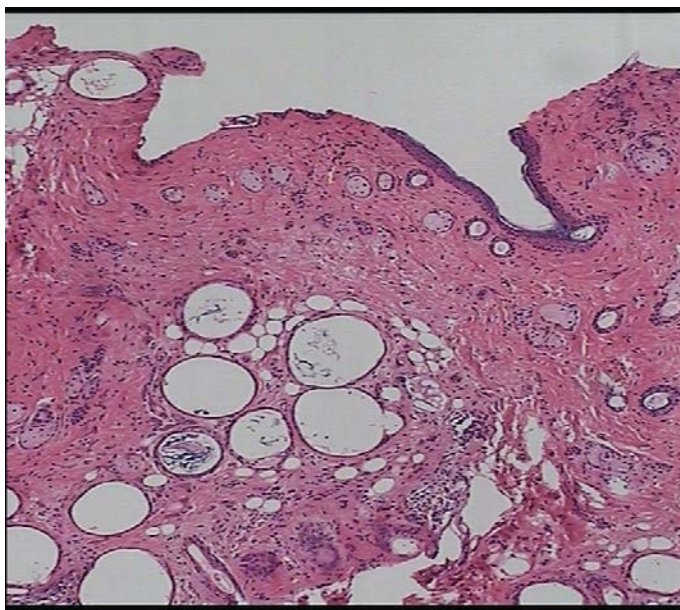
11.5.8. Αποτελέσματα ιστοπαθολογικής μελέτης

Τα δείγματα δέρματος που ελήφθησαν στο τέλος του πειράματος, στάλθηκαν για ιστοπαθολογική αξιολόγηση όπου παρατηρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο από εξειδικευμένο παθολογοανατόμο. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν και βγήκαν συμπεράσματα για τη φλεγμονή, την υπερκεράτωση και τον ερεθισμό. Ακολουθούν ενδεικτικές φωτογραφίες δέρματος από κάθε ομάδα.



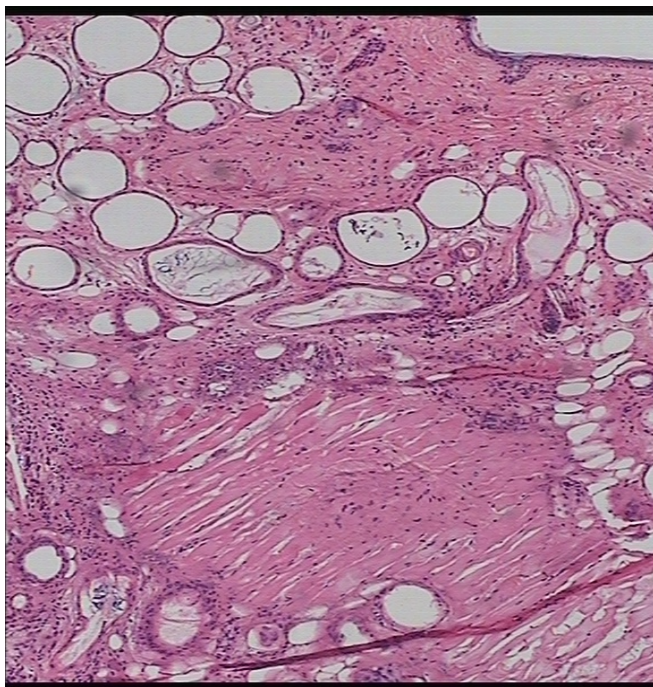
Εικόνα 21. Τομή δέρματος μνός ομάδας 1 (με επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halpensis* 8,2% w/w).

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halpensis* 8,2% w/w παρουσιάζει εικόνα με αραιή φλεγμονή στο υποδόριο (αραιά λεμφοκύτταρα) και φυσιολογική επιδερμίδα (**Εικόνα 21**).



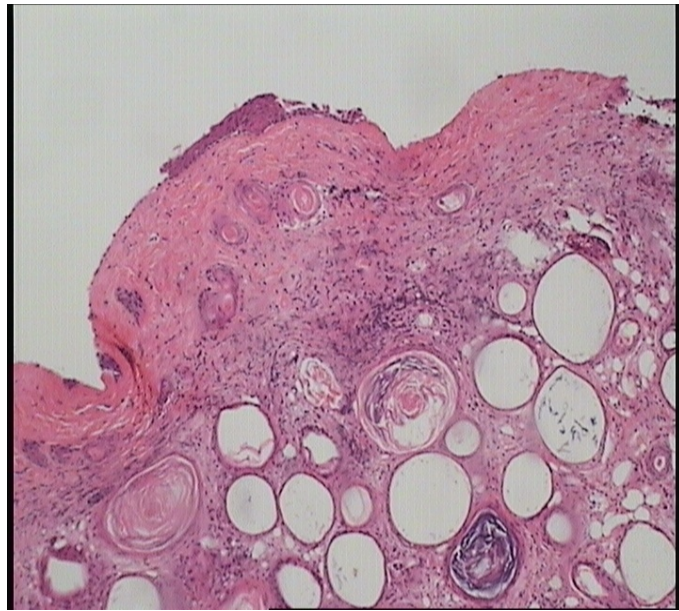
Εικόνα 22. Τομή δέρματος μνός ομάδας 2 (με επίθεμα SA/PEO/CA).

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA παρουσιάζει εικόνα με λίγη φλεγμονή στο υποδόριο (αραιά λεμφοκύτταρα), πιο εντοπισμένη σε σχέση με της ομάδας 1 και φυσιολογική επιδερμίδα (**Εικόνα 22**).



Εικόνα 23. Τομή δέρματος μυός ομάδας 3 (με επίθεμα PEO/CA).

Η ομάδα με το επίθεμα PEO/CA παρουσιάζει φυσιολογική επιδερμίδα και κατά θέσεις φλεγμονώδεις αθροίσεις με οξεία φλεγμονή στο υποδόριο (**Εικόνα 23**).



Εικόνα 24. Τομή δέρματος μυός ομάδας 4, Control (με αποστειρωμένη γάζα).

Η ομάδα Control παρουσιάζει εικόνα με οξεία φλεγμονή και στο χόριο και στο υποδόριο και φυσιολογική επιδερμίδα (**Εικόνα 24**).

- ❖ Συμπερασματικά, την καλύτερη εικόνα δέρματος επέδειξε απ' όλες τις ομάδες, η ομάδα 1 με το επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halepensis* 8,2% w/w ενώ τη χειρότερη η ομάδα Control.

11.6. Πείραμα Β΄

11.6.1. Αποτελέσματα TEWL

Ο μέσος όρος (M.O.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της TEWL στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω **Πίνακα 37** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 8**.

❖ Αξίζει να σημειωθεί ότι από εδώ και πέρα, σε όλους τους πίνακες του πειράματος Β΄, ο αριθμός κάθε ομάδας θα αντιπροσωπεύει και το επίθεμα που χρησιμοποιήθηκε σαν θεραπεία, στην αντίστοιχη ομάδα, σύμφωνα με τον συμβολισμό που υποδεικνύει ο **Πίνακας 36**.

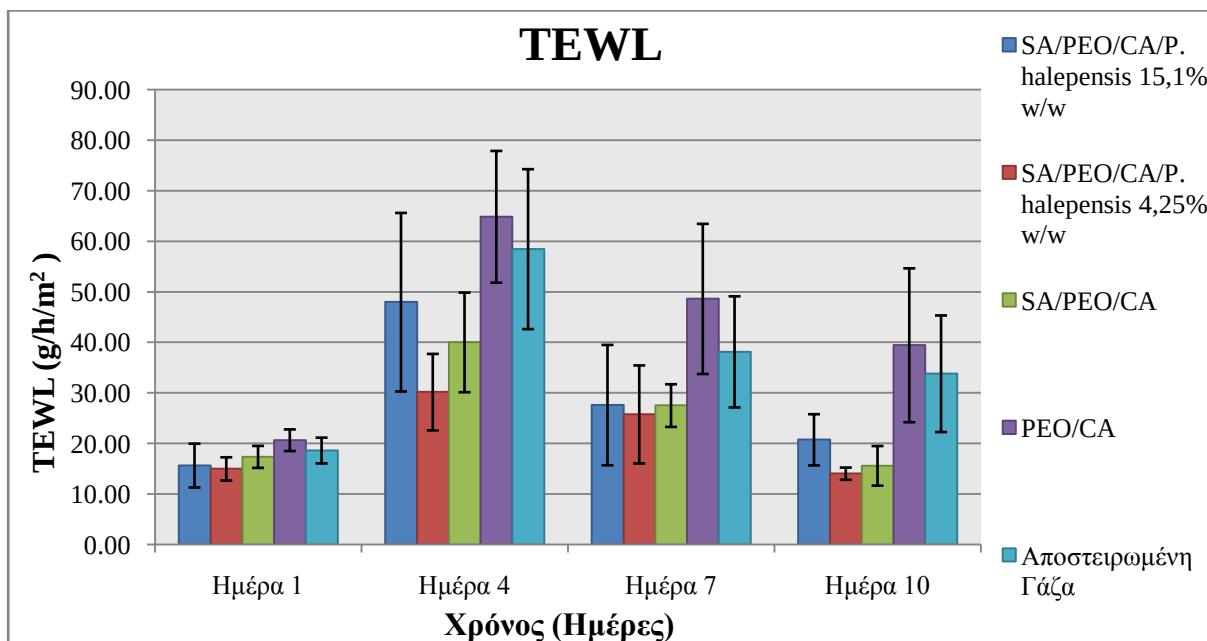
Πίνακας 36. Αντιστοιχία ομάδων πειράματος με το αντίστοιχο επίθεμα που χρησιμοποιήθηκε σαν θεραπεία στην καθεμιά.

Ομάδα	Επίθεμα
1	SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 15,1% w/w
2	SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 4,25% w/w
3	SA/PEO/CA
4	PEO/CA
5 (Control)	Αποστειρωμένη Γάζα

Πίνακας 37. Μέσος όρος τιμών της TEWL ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	15,65 ($\pm 4,34$)	47,98 ($\pm 17,66$)	27,62 ($\pm 11,90$)	20,75 ($\pm 5,06$)
2	15,00 ($\pm 2,30$)	30,18 ($\pm 7,56$)	25,77 ($\pm 9,70$)	14,05 ($\pm 1,21$)
3	17,37 ($\pm 2,17$)	40,02 ($\pm 9,85$)	27,52 ($\pm 4,22$)	15,60 ($\pm 3,92$)
4	20,67 ($\pm 2,14$)	64,87 ($\pm 13,03$)	48,62 ($\pm 14,85$)	39,45 ($\pm 15,23$)
5 (Control)	18,63 ($\pm 2,55$)	58,47 ($\pm 15,82$)	38,15 ($\pm 10,99$)	33,82 ($\pm 11,53$)

Διάγραμμα 8. Μεταβολή της TEWL σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 38. Ποσοστιαία μεταβολή της TEWL σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	25%
2	-6%
3	-10%
4	48%
5 (Control)	45%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της TEWL ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 39**.

Πίνακας 39. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής TEWL.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,200	0,200	0,200	0,002	0,387	0,931	0,334	0,001
2	0,200	0,200	0,200	0,200	0,949	0,603	0,260	0,933
3	0,052	0,200	0,200	0,200	0,174	0,683	0,208	0,938
4	0,200	0,200	0,200	0,104	0,342	0,648	0,920	0,071
5 (Control)	0,200	0,200	0,116	0,200	0,327	0,520	0,277	0,247

Στον **Πίνακα 39** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή TEWL ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 40**.

Πίνακας 40. Paired t-test για τη σύγκριση της TEWL μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-50,14	-14,53	0,005*
	1-7	-23,17	-0,76	0,041*
	1-10	-11,72	1,52	0,105
	4-7	2,76	37,97	0,031*
	4-10	12,50	41,97	0,005*
	7-10	-4,45	18,18	0,179
2	1-4	-21,06	-10,20	0,001*
	1-7	-19,38	-2,15	0,024*
	1-10	-2,54	4,44	0,515
	4-7	-5,10	14,83	0,265
	4-10	8,84	24,33	0,003*
	7-10	0,46	22,97	0,044*
3	1-4	-30,48	-14,82	0,001*
	1-7	-13,86	-6,44	0,001*
	1-10	-1,84	5,37	0,263
	4-7	6,77	18,23	0,002*
	4-10	16,57	32,26	0,000*
	7-10	7,61	16,22	0,001*
4	1-4	-58,49	-29,91	0,001*
	1-7	-44,27	-11,63	0,007*
	1-10	-36,15	-1,42	0,039*
	4-7	9,46	23,04	0,002*
	4-10	15,47	35,36	0,001*
	7-10	-0,19	18,52	0,053
5 (Control)	1-4	-56,33	-23,33	0,002*
	1-7	-30,41	-8,63	0,006*
	1-10	-27,58	-2,78	0,025*
	4-7	-4,96	45,59	0,094
	4-10	1,70	47,60	0,040*
	7-10	-13,83	22,50	0,567

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 41**.

Πίνακας 40. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της TEWL τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,694
	1-3		0,303
	1-4		0,005*
	2-3		0,159
	2-4		0,002*
	3-4		0,054
	1-5(Control)		0,079
	2-5(Control)		0,035*
	3-5(Control)		0,445
	4-5(Control)		0,224
4	1-2	LSD	0,030*
	1-3		0,302
	1-4		0,035*
	2-3		0,226
	2-4		0,000*
	3-4		0,003*
	1-5(Control)		0,178
	2-5(Control)		0,001*
	3-5(Control)		0,022*
	4-5(Control)		0,405
7	1-2	LSD	0,771
	1-3		0,987
	1-4		0,003*
	2-3		0,783
	2-4		0,001*
	3-4		0,003*
	1-5(Control)		0,107
	2-5(Control)		0,060
	3-5(Control)		0,104
	4-5(Control)		0,109
10	1-2	LSD	0,210
	1-3		0,332
	1-4		0,001*
	2-3		0,769
	2-4		0,000*
	3-4		0,000*
	1-5(Control)		0,019*
	2-5(Control)		0,001*
	3-5(Control)		0,002*
	4-5(Control)		0,290

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 8 & Πίνακες 36-40**) που αφορούν στην TEWL διαπιστώνεται ότι:

- Η πορεία των τιμών της TEWL σε όλες τις ομάδες έως την 4η ημέρα (έξαρση φλεγμονής) είναι ανοδική ενώ από την 7η ημέρα οι τιμές ακολουθούν καθοδική πορεία (**Διάγραμμα 8**).
- Σε όλες τις ομάδες, η 1η ημέρα (πριν την ακτινοβολήση) με την 4η ($p=0,005$) και με τη 7η ($p=0,041$) διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι τη 7η ημέρα υπάρχει βελτίωση της TEWL σε σύγκριση με την 4η ημέρα ($p=0,031$, $p=0,005$) παρόλο που ο επιδερμικός φραγμός δεν επανέρχεται πλήρως στη φυσιολογική του κατάσταση (τιμές ημέρας 1) (**Πίνακας 39 & Διάγραμμα 8**).
- Όλες σχεδόν οι ομάδες (1,2,3) έχουν σημαντική μείωση της TEWL από την 4η μέρα στη 10η ($p=0,005$, $p=0,003$, $p=0,000$) και από την 7η στη 10η ($p=.0,044$, $p=0,001$) Και στις άλλες δύο ομάδες (4, Control) τα επίπεδα μειώθηκαν τις αντίστοιχες μέρες αλλά όχι σημαντικά (**Πίνακας 39 & Διάγραμμα 8**).
- Τη μεγαλύτερη αύξηση της TEWL εμφάνισε η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) κατά 48%, ακολουθούμενη από την ομάδα των μαρτύρων (**Πίνακας 37 & Διάγραμμα 8**).
- Την 4η ημέρα, τη μεγαλύτερη αύξηση της TEWL παρουσιάζει η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) που διαφέρει στατιστικά σημαντικά από τις ομάδες 1,2,3 (ομάδες με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w, επίθεμα με SA/PEO/CA) ($p=0,035$, $p=0,000$, $p=0,003$) που εμφανίζουν αρκετά χαμηλότερα επίπεδα TEWL (**Πίνακας 40 & Διάγραμμα 8**).
- Κατά συνέπεια, την 4η ημέρα, μεγαλύτερη επιδείνωση της βλάβης παρουσιάζει η ομάδα 4 ενώ την καλύτερη εικόνα δίνει η ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w) ακολουθούμενη από την ομάδα 3 (επίθεμα με PEO/CA). Πιθανότατα, η δραστική ουσία *P. halepensis* παρουσιάζει ιδιότητες που αναστέλλουν (και ενδεχομένως προλαμβάνουν) την εμφάνιση της φλεγμονής στα αρχικά στάδια (**Πίνακας 40 & Διάγραμμα 8**).
- Την 7η μέρα, η ομάδα 4 συνεχίζει να έχει στατιστικά υψηλότερα επίπεδα TEWL από τις ομάδες 1,2,3 (ομάδες με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w, επίθεμα με SA/PEO/CA) ($p= 0,003$, $p=0,001$, $p=0,003$) αλλά στο σύνολό τους όλες οι ομάδες έχουν μειωθεί από την 4η μέρα (**Πίνακας 40 & Διάγραμμα 8**).

- Τη 10η και τελευταία μέρα ημέρα η ομάδα 3 ακολουθούμενη από την ομάδα 4 έχουν το υψηλότερο ποσοστό TEWL το οποία είναι στατιστικά πολύ σημαντικότερα από τα ποσοστά των υπόλοιπων ομάδων (1,2,3) ($p=0,001$, $p=0,000$, $p=0,000$, $p=0,019$, $p=0,001$, $p=0,002$) οι οποίες πλησιάζουν στα αρχικά (φυσιολογικά) (**Πίνακας 40 & Διάγραμμα 8**).

Καταλήγοντας, συμπεραίνεται ότι η ομάδα με το επίθεμα PEO/CA εμφάνισε τη μεγαλύτερη βλάβη καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

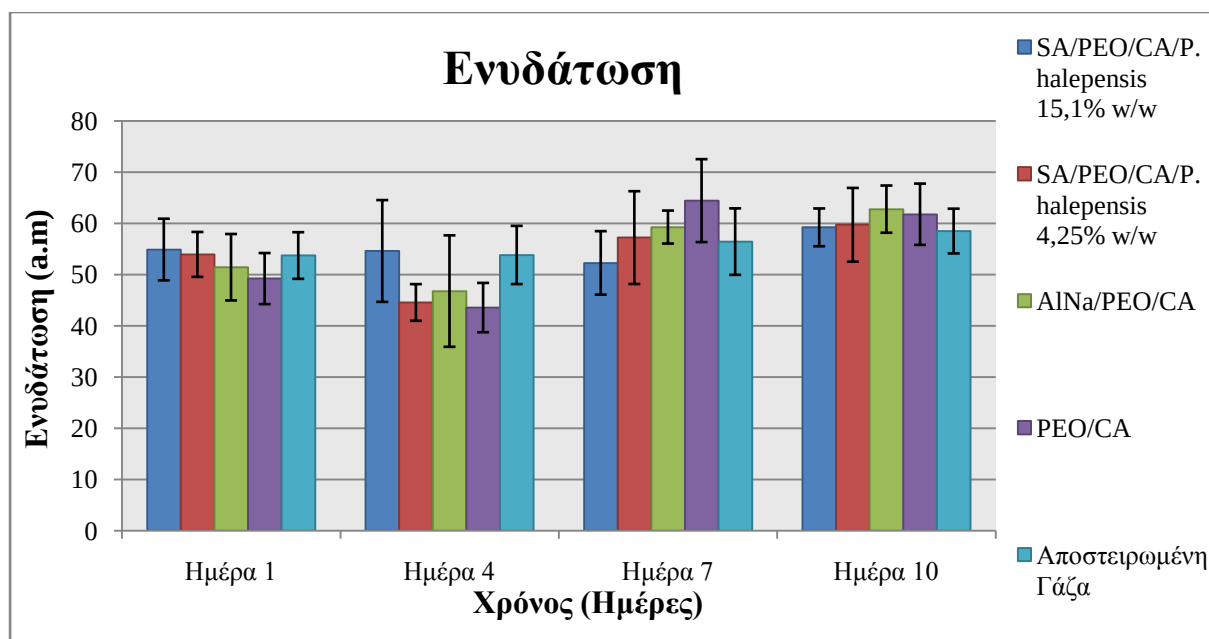
11.6.2. Αποτελέσματα Ενυδάτωσης

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ενυδάτωσης στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω **Πίνακα 41** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 9**.

Πίνακας 41. Μέσος όρος τιμών της TEWL ($\pm$ τυπική απόκλιση) ($n=6$).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	54,89 ($\pm 6,02$)	54,61 ($\pm 9,94$)	52,28 ($\pm 6,20$)	59,22 ($\pm 3,69$)
2	53,94 ($\pm 4,38$)	44,56 ($\pm 3,58$)	57,22 ($\pm 9,06$)	59,72 ($\pm 7,20$)
3	51,44 ($\pm 6,49$)	46,78 ($\pm 10,88$)	59,28 ($\pm 3,22$)	62,78 ($\pm 4,61$)
4	49,22 ($\pm 4,99$)	43,56 ($\pm 4,82$)	64,44 ($\pm 8,20$)	61,78 ($\pm 5,99$)
5 (Control)	53,72 ($\pm 4,55$)	53,83 ($\pm 5,68$)	56,44 ($\pm 6,49$)	58,50 ($\pm 4,37$)

Διάγραμμα 9. Μεταβολή της ενυδάτωσης σε βάθος χρόνου 10 ημερών: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:.



Πίνακας 42. Ποσοστιαία μεταβολή της ενυδάτωσης σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	7%
2	10%
3	18%
4	20%
5 (Control)	8%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της ενυδάτωσης ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 42**.

Πίνακας 43. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής ενυδάτωσης.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,148	0,200	0,200	0,002	0,311	0,254	0,399	0,428
2	0,200	0,200	0,042	0,039	0,466	0,751	0,108	0,139
3	0,200	0,200	0,200	0,200	0,657	0,813	0,971	0,621
4	0,200	0,200	0,200	0,200	0,097	0,646	0,908	0,688
5 (Control)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,895	0,806	0,240	0,349

Στον **Πίνακα 43** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή ενυδάτωσης ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 44**.

Πίνακας 44. Paired t-test για τη σύγκριση της ενυδάτωσης μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-15,28	15,84	0,965
	1-7	-2,77	8,00	0,268
	1-10	-9,50	0,84	0,084
	4-7	-11,37	16,03	0,680
	4-10	-16,87	7,65	0,378
	7-10	-14,96	1,07	0,077
2	1-4	3,02	15,76	0,013*
	1-7	-10,02	3,46	0,267
	1-10	-16,28	4,72	0,216
	4-7	-22,86	-2,47	0,024*
	4-10	-22,41	-7,92	0,003
	7-10	-15,64	10,64	0,645
3	1-4	-10,44	19,78	0,463
	1-7	-16,21	0,54	0,061
	1-10	-19,23	-3,44	0,014*
	4-7	-23,32	-1,68	0,031*
	4-10	-25,69	-6,31	0,008*
	7-10	-10,51	3,51	0,256
4	1-4	-2,07	13,41	0,119
	1-7	-15,96	-4,15	0,007*
	1-10	-19,34	-5,77	0,005*
	4-7	-19,33	-12,11	0,000*
	4-10	-24,46	-11,98	0,001*
	7-10	-9,53	4,53	0,402
5 (Control)	1-4	-7,73	7,51	0,972
	1-7	-12,66	7,22	0,513
	1-10	-10,97	1,42	0,104
	4-7	-6,94	1,72	0,182
	4-10	-13,05	3,72	0,212
	7-10	-11,85	7,74	0,613

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 45**.

Πίνακας 45. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της ενυδάτωσης τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,762
	1-3		0,275
	1-4		0,078
	2-3		0,426
	2-4		0,139
	3-4		0,479
	1-5(Control)		0,709
	2-5(Control)		0,943
	3-5(Control)		0,468
	4-5(Control)		0,158
4	1-2	LSD	0,030*
	1-3		0,085
	1-4		0,018*
	2-3		0,615
	2-4		0,821
	3-4		0,467
	1-5(Control)		0,860
	2-5(Control)		0,043*
	3-5(Control)		0,118
	4-5(Control)		0,027*
7	1-2	LSD	0,226
	1-3		0,091
	1-4		0,005*
	2-3		0,611
	2-4		0,082
	3-4		0,207
	1-5(Control)		0,306
	2-5(Control)		0,847
	3-5(Control)		0,484
	4-5(Control)		0,056
10	1-2	LSD	0,872
	1-3		0,258
	1-4		0,413
	2-3		0,330
	2-4		0,510
	3-4		0,748
	1-5(Control)		0,816
	2-5(Control)		0,694
	3-5(Control)		0,176
	4-5(Control)		0,296

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 9 & Πίνακες 41-45**) που αφορούν στην ενυδάτωση διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη αύξηση της ενυδάτωσης εμφάνισαν οι ομάδες 3 και 4 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA, ομάδα με επίθεμα PEO/CA) η οποία πιθανόν να οφείλεται σε οίδημα ή πύον (**Πίνακας 42 & Διάγραμμα 9**).

➤ Η ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 4,25% w/w) την 4η μέρα παρουσιάζει σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της ενυδάτωσής της σε σχέση με την 1η ($p=0,013$) και την 7η μέρα ($p=0,024$) που είναι αρκετά υψηλότερα. Στις υπόλοιπες ομάδες εκτός από την 4η (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 15,1% w/w, ομάδα με επίθεμα SA/PEO/CA, Control) φαίνεται ότι η μείωση αρχικά και στη συνέχεια η αύξηση της ενυδάτωσης δεν ήταν στατιστικά σημαντική (**Πίνακας 44 & Διάγραμμα 9**).

➤ Στην 3η ομάδα (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) φαίνεται ότι το δέρμα των μυών στο τέλος του πειράματος είναι πολύ πιο ενυδατωμένο σε σχέση με τις φυσιολογικές τιμές ($p=0,014$). Ακόμη, η αύξηση της ενυδάτωσης από την 4η στην 7η ($p=0,031$) και από την 4η στη 10η ($p=0,008$) ημέρα είναι σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τις υπόλοιπες μέρες (**Πίνακας 44 & Διάγραμμα 9**).

➤ Η 4η ομάδα εμφάνισε τη μεγαλύτερη ενυδάτωση από όλες τις ομάδες συνολικά. Μάλιστα, αυτή η αύξηση της ενυδάτωσης από τις ημέρες 1,4 ($p=0,018$) στις μέρες 7 ($p=0,007$, $p=0,000$) και 10 ($p=0,005$, $p=0,000$) ήταν στατιστικά σημαντική (**Πίνακας 44 & Διάγραμμα 9**).

➤ Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής) στις ομάδες 2 και 4 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w και ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) τα επίπεδα ενυδάτωσης στο δέρμα των μυών ήταν σημαντικά χαμηλότερα από αυτό της ομάδας 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w) ($p=0,030$, $p=0,018$). Αντίθετα, τη μέρα αυτή η ενυδάτωση στην ομάδα των μαρτύρων ήταν ασύγκριτα υψηλότερη από αυτή στους μύες των ομάδων 2 και 4 ($p=0,043$, $p=0,027$) (**Πίνακας 45 & Διάγραμμα 9**).

➤ Την 7η ημέρα που αρχίζει η φλεγμονή να υποχωρεί, η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) παρουσιάζει τα μεγαλύτερα επίπεδα ενυδάτωσης σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες και με ιδιαίτερη διαφορά από την ομάδα με το επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w ($p=0,005$) (**Πίνακας 45 & Διάγραμμα 9**).

- Τέλος, τη 10η ημέρα οι διαφορές στα επίπεδα ενυδάτωσης όλων των ομάδων δεν είναι στατιστικά σημαντικές (Πίνακας 45 & Διάγραμμα 9).
- Σε γενικές γραμμές, η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) παρουσίασε το υψηλότερο επίπεδο ενυδάτωσης συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες (Διάγραμμα 9).

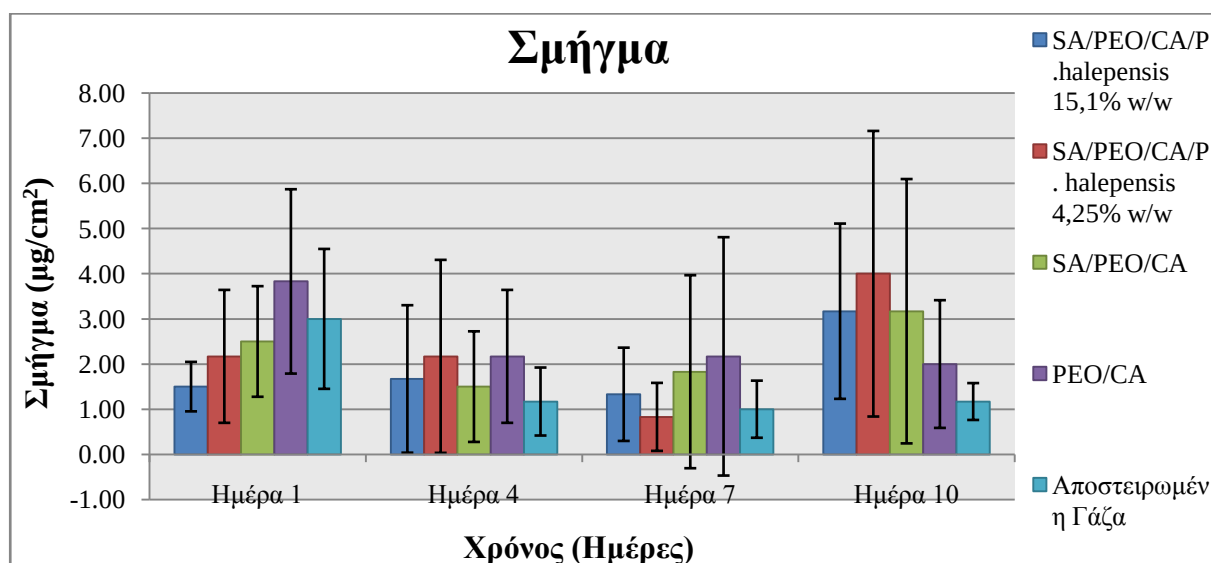
11.6.3. Αποτελέσματα Σμήγματος

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του σμήγματος στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω Πίνακα 46 και στο αντίστοιχο Διάγραμμα 10.

Πίνακας 46. Μέσος όρος τιμών του σμήγματος ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	1,50 ($\pm 0,55$)	1,67 ($\pm 1,63$)	1,33 ($\pm 1,03$)	3,17 ($\pm 1,94$)
2	2,17 ($\pm 1,47$)	2,17 ($\pm 2,14$)	0,83 ($\pm 0,75$)	4,00 ($\pm 3,16$)
3	2,50 ($\pm 1,22$)	1,50 ($\pm 1,22$)	1,83 ($\pm 2,14$)	3,17 ($\pm 2,93$)
4	3,83 ($\pm 2,04$)	2,17 ($\pm 1,47$)	2,17 ($\pm 2,64$)	2,00 ($\pm 1,41$)
5 (Control)	3,00 ($\pm 1,55$)	1,17 ($\pm 0,75$)	1,00 ($\pm 0,63$)	1,17 ($\pm 0,41$)

Διάγραμμα 10. Μεταβολή του σμήγματος σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 47. Ποσοστιαία μεταβολή του σμήγματος σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	53%
2	46%
3	21%
4	-48%
5 (Control)	-61%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές του σμήγματος ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 48**.

Πίνακας 48. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής σμήγματος.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,0566	0,000	0,117	0,200	0,004	0,000	0,473	0,452
2	0,136	0,200	0,200	0,036	0,022	0,317	0,212	0,104
3	0,047	0,000	0,057	0,017	0,101	0,000	0,096	0,004
4	0,200	0,200	0,031	0,200	0,393	0,020	0,053	0,960
5 (Control)	0,036	0,200	0,036	0,000	0,010	0,212	0,101	0,00

Στον **Πίνακα 48** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή TEWL ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 49**.

Πίνακας 49. Paired t-test για τη σύγκριση του σμήγματος μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-2,20	1,87	0,842
	1-7	-1,23	1,56	0,771
	1-10	-3,62	0,29	0,080
	4-7	-0,75	1,42	0,465
	4-10	-4,80	1,80	0,296
	7-10	-4,83	1,17	0,177
2	1-4	-2,10	2,10	1,000
	1-7	-0,73	3,40	0,158
	1-10	-6,31	2,64	0,340
	4-7	-1,21	3,88	0,235
	4-10	-6,16	2,49	0,325
	7-10	-6,51	0,18	0,059
3	1-4	-0,15	2,15	0,076
	1-7	-2,28	3,61	0,586
	1-10	-3,38	2,04	0,555
	4-7	-3,35	2,68	0,788
	4-10	-3,50	0,17	0,067
	7-10	-5,62	2,95	0,460
4	1-4	-0,96	4,29	0,164
	1-7	-0,96	4,29	0,164
	1-10	-0,94	4,60	0,150
	4-7	-3,57	3,57	1,000
	4-10	-2,52	2,86	0,880
	7-10	-2,76	3,09	0,889
5 (Control)	1-4	0,29	3,38	0,028*
	1-7	0,67	3,33	0,012*
	1-10	0,03	3,64	0,048*
	4-7	-0,26	0,60	0,363
	4-10	-0,94	0,94	1,000
	7-10	-0,96	0,62	0,611

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 50**.

Πίνακας 50. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών του σμήγματος τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,434
	1-3		0,244
	1-4		0,010*
	2-3		0,694
	2-4		0,058
	3-4		0,124
	1-5(Control)		0,086
	2-5(Control)		0,330
	3-5(Control)		0,556
	4-5(Control)		0,330
4	1-2	LSD	0,573
	1-3		0,850
	1-4		0,573
	2-3		0,453
	2-4		1,000
	3-4		0,453
	1-5(Control)		0,073
	2-5(Control)		0,264
	3-5(Control)		0,706
	4-5(Control)		0,264
7	1-2	LSD	0,604
	1-3		0,604
	1-4		0,389
	2-3		0,303
	2-4		0,173
	3-4		0,729
	1-5(Control)		0,729
	2-5(Control)		0,862
	3-5(Control)		0,389
	4-5(Control)		0,231
10	1-2	LSD	0,520
	1-3		1,000
	1-4		0,370
	2-3		0,520
	2-4		0,130
	3-4		0,370
	1-5(Control)		0,130
	2-5(Control)		0,036*
	3-5(Control)		0,130
	4-5(Control)		0,520

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 10 & Πίνακες 46-50**) που αφορούν στο σμήγμα διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη μείωση σμήγματος εμφάνισε η ομάδα των μαρτύρων (Control) (**Πίνακας 47 & Διάγραμμα 3**).

➤ Η ομάδα των μαρτύρων (ομάδα 5) παρουσίασε στατιστικά σημαντική μείωση του σμήγματος από την 1η μέχρι τη 10η μέρα ($p=0,048$) καθώς και μεταξύ των μερών 1-4 ($p=0,028$) και 1-7 ($p=0,012$) λόγω της ύπαρξης φλεγμονής σε σχέση με τις άλλες ομάδες, (ομάδες 1,2,3,4) (**Πίνακας 49 & Διάγραμμα 10**).

➤ Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), η ομάδα 5 (ομάδα με γάζα, Control) εμφανίζει τη λιγότερη ποσότητα σμήγματος στο δέρμα των μυών (ενδεχομένως λόγω της ξηροδερμίας από τη φλεγμονή). Αντίθετα, τη μέρα αυτή, οι ομάδες 2 και 4 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w, ομάδα με επίθεμα PEO/CA) έχουν το περισσότερο σμήγμα (**Πίνακας 50 & Διάγραμμα 10**).

➤ Την 7η ημέρα που αρχίζει η φλεγμονή να υποχωρεί, η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) παρουσιάζει τα μεγαλύτερα επίπεδα σμήγματος σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες αλλά χωρίς σημαντική διαφορά (**Πίνακας 50 & Διάγραμμα 10**).

➤ Τέλος, τη 10η ημέρα η ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w) παρουσιάζει το υψηλότερο επίπεδο σμήγματος από όλες τις ομάδες εμφανίζοντας σημαντικότερη διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων ($p=0,036$) που στο τέλος και αυτού του πειράματος έχει το χαμηλότερο επίπεδο σμήγματος (**Πίνακας 50 & Διάγραμμα 10**).

➤ Συνοπτικά, η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w) παρουσίασε τη μεγαλύτερη αύξηση σμήγματος συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες (**Πίνακας 50 & Διάγραμμα 10**).

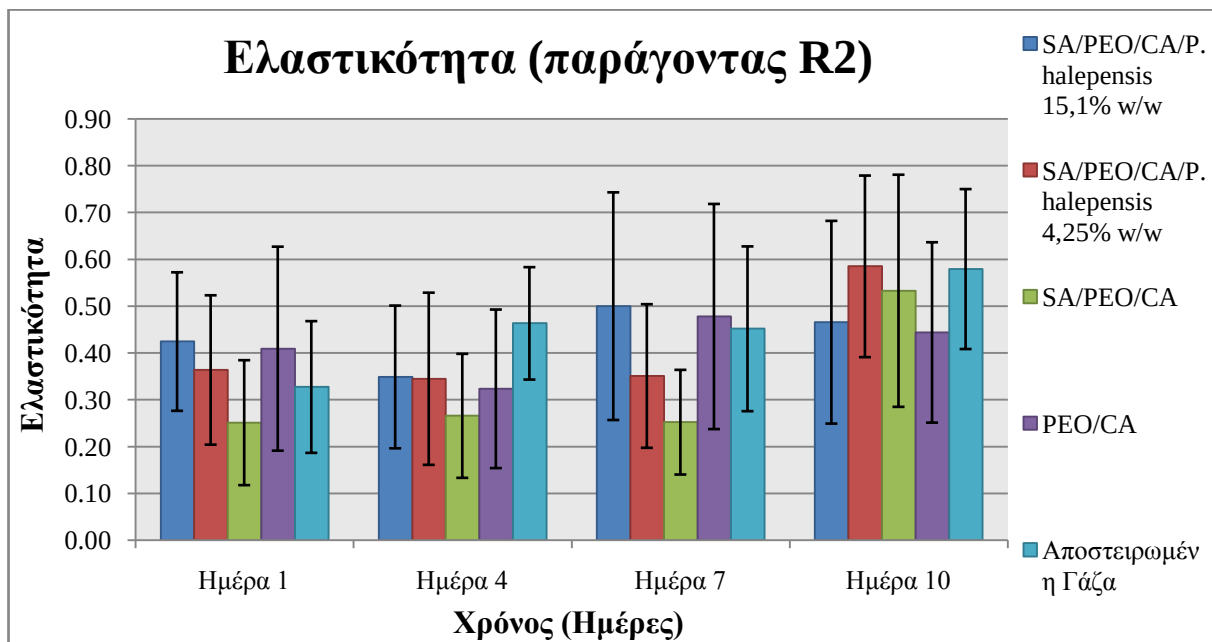
11.6.4. Αποτελέσματα Ελαστικότητας

Ο μέσος όρος (M.O.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ελαστικότητας στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω **Πίνακα 51** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 11**.

Πίνακας 51. Μέσος όρος τιμών της ελαστικότητας ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	0,4245 ($\pm 0,15$)	0,3489 ($\pm 0,15$)	0,5001 ($\pm 0,24$)	0,4658 ($\pm 0,22$)
2	0,3638 ($\pm 0,16$)	0,3450 ($\pm 0,18$)	0,3509 ($\pm 0,15$)	0,5852 ($\pm 0,19$)
3	0,2512 ($\pm 0,13$)	0,2658 ($\pm 0,13$)	0,2522 ($\pm 0,11$)	0,5330 ($\pm 0,25$)
4	0,4093 ($\pm 0,22$)	0,3235 ($\pm 0,17$)	0,4780 ($\pm 0,24$)	0,4440 ($\pm 0,19$)
5 (Control)	0,3274 ($\pm 0,14$)	0,4634 ($\pm 0,12$)	0,4518 ($\pm 0,18$)	0,5794 ($\pm 0,17$)

Διάγραμμα 11. Μεταβολή της ελαστικότητας σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:.



Πίνακας 52. Ποσοστιαία μεταβολή της ελαστικότητας σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	9%
2	38%
3	53%
4	8%
5 (Control)	43%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της ελαστικότητας ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 53**.

Πίνακας 53. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής ελαστικότητας.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,200	0,200	0,200	0,200	0,770	0,760	0,453	0,612
2	0,200	0,200	0,200	0,200	0,968	0,141	0,747	0,950
3	0,052	0,200	0,200	0,200	0,175	0,595	0,153	0,487
4	0,200	0,200	0,200	0,200	0,230	0,554	0,859	0,503
5 (Control)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,791	0,494	0,510	0,218

Στον **Πίνακα 53** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή ελαστικότητας ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 54**.

Πίνακας 54. Paired t-test για τη σύγκριση της ελαστικότητας μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-0,16	0,31	0,440
	1-7	-0,34	0,19	0,492
	1-10	-0,24	0,16	0,618
	4-7	-0,54	0,23	0,359
	4-10	-0,34	0,11	0,236
	7-10	-0,36	0,42	0,830
2	1-4	-0,22	0,25	0,845
	1-7	-0,13	0,16	0,826
	1-10	-0,42	-0,02	0,038*
	4-7	-0,16	0,14	0,923
	4-10	-0,45	-0,03	0,032*
	7-10	-0,39	-0,08	0,012*
3	1-4	-0,12	0,09	0,737
	1-7	-0,12	0,12	0,983
	1-10	-0,50	-0,06	0,022*
	4-7	-0,11	0,13	0,781
	4-10	-0,50	-0,03	0,032*
	7-10	-0,44	-0,12	0,006*
4	1-4	-0,01	0,18	0,062
	1-7	-0,33	0,19	0,525
	1-10	-0,38	0,31	0,806
	4-7	-0,42	0,11	0,194
	4-10	-0,44	0,20	0,374
	7-10	-0,27	0,34	0,783
5 (Control)	1-4	-0,37	0,10	0,198
	1-7	-0,29	0,04	0,113
	1-10	-0,46	-0,05	0,025*
	4-7	-0,25	0,27	0,914
	4-10	-0,36	0,13	0,271
	7-10	-0,38	0,13	0,256

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 55**.

Πίνακας 55. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της ελαστικότητας τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,524
	1-3		0,077
	1-4		0,873
	2-3		0,242
	2-4		0,633
	3-4		0,105
	1-5(Control)		0,311
	2-5(Control)		0,701
	3-5(Control)		0,426
	4-5(Control)		0,392
4	1-2	LSD	1,000
	1-3		0,879
	1-4		0,998
	2-3		0,896
	2-4		0,999
	3-4		0,965
	1-5(Control)		0,698
	2-5(Control)		0,672
	3-5(Control)		0,202
	4-5(Control)		0,524
7	1-2	LSD	0,190
	1-3		0,034*
	1-4		0,844
	2-3		0,381
	2-4		0,262
	3-4		0,052
	1-5(Control)		0,667
	2-5(Control)		0,371
	3-5(Control)		0,084
	4-5(Control)		0,815
10	1-2	LSD	0,325
	1-3		0,577
	1-4		0,856
	2-3		0,665
	2-4		0,246
	3-4		0,461
	1-5(Control)		0,349
	2-5(Control)		0,961
	3-5(Control)		0,700
	4-5(Control)		0,266

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 11 & Πίνακες 51-55**) που αφορούν στην Ενυδάτωση διαπιστώνεται ότι:

- Σε όλες τις ομάδες, μέχρι το τέλος του πειράματος, η ελαστικότητα του δέρματος των μυών αυξήθηκε. Μεγαλύτερη αύξηση ελαστικότητας εμφάνισε η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) (**Πίνακας 52 & Διάγραμμα 11**).
- Οι ομάδες 2, 3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w και ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) στο τέλος του πειράματος (10η μέρα) είχαν παρουσιάσει σημαντικότερη αύξηση σε σύγκριση με τις φυσιολογικές τους τιμές (1η μέρα), ($p=0,038$, $p=0,022$) με την 4η ($p=0,032$, $p=0,032$) και την 7η μέρα ($p=0,012$, $p=0,006$) (**Πίνακας 54 & Διάγραμμα 11**).
- Η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) δεν είχε σημαντικές διαφορές κατά τη διάρκεια του πειράματος ενώ η ομάδα των μαρτύρων (Control) είχε στατιστικά σημαντική αύξηση στο επίπεδο της ελαστικότητάς της μεταξύ των ημερών 1-10 ($p=0,025$) (**Πίνακας 54 & Διάγραμμα 11**).
- Την 4η ημέρα (έξαρση φλεγμονής) οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των ομάδων δεν ήταν σημαντικές (**Πίνακας 55 & Διάγραμμα 11**).
- Την 7η ημέρα που αρχίζει η φλεγμονή να υποχωρεί, η ομάδα 1 παρουσιάζει σημαντική άνοδο σε σχέση με την ομάδα 3 ($p=0,034$) (**Πίνακας 55 & Διάγραμμα 11**).
- Τέλος, τη 10η ημέρα όλες οι ομάδες έχουν ελαστικότητα δέρματος μεγαλύτερη από τη φυσιολογική τους (**Πίνακας 11 & Διάγραμμα 55**).

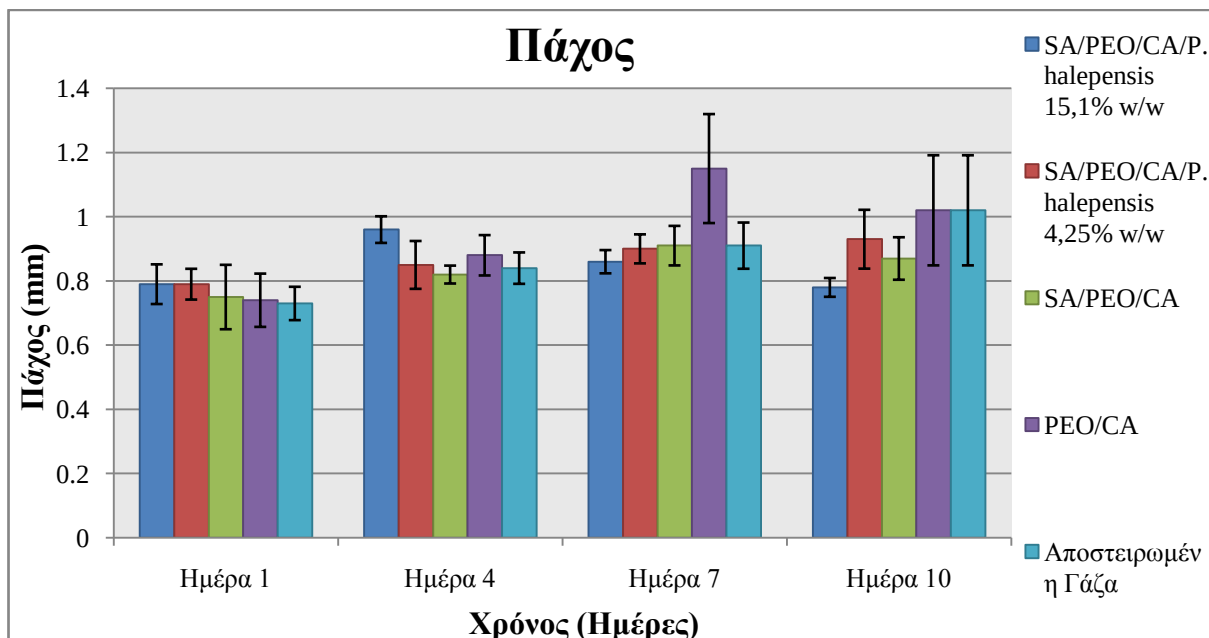
11.6.5. Αποτελέσματα Πάχους

Ο μέσος όρος (M.O.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του πάχους στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω **Πίνακα 56** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 12**.

Πίνακας 56. Μέσος όρος τιμών του πάχους ($\pm$ τυπική απόκλιση) (n=6).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	0,79 ($\pm 0,06$)	0,96 ($\pm 0,04$)	0,86 ($\pm 0,04$)	0,79 ($\pm 0,03$)
2	0,79 ($\pm 0,05$)	0,85 ($\pm 0,07$)	0,90 ($\pm 0,05$)	0,93 ($\pm 0,05$)
3	0,75 ($\pm 0,10$)	0,82 ($\pm 0,03$)	0,91 ($\pm 0,06$)	0,87 ($\pm 0,07$)
4	0,74 ($\pm 0,08$)	0,88 ($\pm 0,06$)	1,15 ($\pm 0,17$)	1,02 ($\pm 0,17$)
5 (Control)	0,73 ($\pm 0,05$)	0,84 ($\pm 0,05$)	0,91 ($\pm 0,07$)	1,02 ($\pm 0,17$)

Διάγραμμα 12. Μεταβολή του πάχους σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 57. Ποσοστιαία μεταβολή του πάχους σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	0%
2	15%
3	14%
4	27%
5 (Control)	28%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές του πάχους ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 58**.

Πίνακας 58. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής πάχους.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,088	0,200	0,200	0,002	0,046	0,058	0,940	0,335
2	0,200	0,200	0,200	0,116	0,702	0,460	0,891	0,081
3	0,200	0,200	0,065	0,200	0,742	0,941	0,109	0,438
4	0,200	0,191	0,200	0,104	0,439	0,093	0,630	0,829
5 (Control)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,960	0,635	0,322	0,829

Στον **Πίνακα 58** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή πάχους ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 59**.

Πίνακας 59. Paired t-test για τη σύγκριση του πάχους μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-0,23	-0,11	0,001*
	1-7	-0,16	0,02	0,113
	1-10	-0,02	0,10	0,142
	4-7	0,03	0,18	0,016*
	4-10	0,17	0,26	0,000*
	7-10	0,06	0,15	0,001*
2	1-4	-0,17	0,06	0,283
	1-7	-0,18	-0,04	0,012*
	1-10	-0,22	-0,05	0,011*
	4-7	-0,14	0,03	0,173
	4-10	-0,23	0,07	0,232
	7-10	-0,15	0,10	0,618
3	1-4	-0,16	0,03	0,132
	1-7	-0,28	-0,03	0,026*
	1-10	-0,23	0,00	0,044*
	4-7	-0,17	-0,01	0,032*
	4-10	-0,13	0,03	0,182
	7-10	-0,08	0,15	0,426
4	1-4	-0,27	-0,02	0,032
	1-7	-0,63	-0,19	0,005*
	1-10	-0,48	-0,07	0,017*
	4-7	-0,48	-0,05	0,026*
	4-10	-0,34	0,08	0,162
	7-10	-0,13	0,39	0,262
5 (Control)	1-4	-0,15	-0,06	0,002*
	1-7	-0,25	-0,10	0,002*
	1-10	-0,47	-0,10	0,010*
	4-7	-0,18	0,03	0,132
	4-10	-0,37	0,01	0,060
	7-10	-0,27	0,05	0,145

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 60**.

Πίνακας 60. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών του πάχους τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,937
	1-3		0,385
	1-4		0,254
	2-3		0,344
	2-4		0,224
	3-4		0,781
	1-5(Control)		0,184
	2-5(Control)		0,160
	3-5(Control)		0,633
	4-5(Control)		0,842
4	1-2	LSD	0,001*
	1-3		0,000*
	1-4		0,020*
	2-3		0,397
	2-4		0,227
	3-4		0,046*
	1-5(Control)		0,000*
	2-5(Control)		0,749
	3-5(Control)		0,595
	4-5(Control)		0,131
7	1-2	LSD	0,398
	1-3		0,333
	1-4		0,000*
	2-3		0,900
	2-4		0,000*
	3-4		0,000*
	1-5(Control)		0,318
	2-5(Control)		0,875
	3-5(Control)		0,975
	4-5(Control)		0,000*
10	1-2	LSD	0,018*
	1-3		0,096
	1-4		0,001*
	2-3		0,422
	2-4		0,199
	3-4		0,043*
	1-5(Control)		0,001*
	2-5(Control)		0,199
	3-5(Control)		0,043*
	4-5(Control)		1,000

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 12 & Πίνακες 56-60**) που αφορούν στο πάχος διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη αύξηση του πάχους (υπερκεράτωση) εμφάνισε η ομάδα 5 (ομάδα Control) ενώ το πάχος δέρματος της ομάδας 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w), με τη λήξη του πειράματος τη 10η μέρα είχε επιστρέψει στα φυσιολογικά επίπεδα (**Πίνακας 57 & Διάγραμμα 12**).

➤ Η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 15,1% w/w) παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση στο πάχος από την 1η στην 4η ($p=0,001$) καθώς και σημαντική μείωση από την 4η στην 7η ($p=0,016$), από την 7η στη 10η ($p=0,001$) και από την 4η στη 10η ($p=0,000$) (**Πίνακας 59 & Διάγραμμα 12**).

➤ Η ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 4,25% w/w) εμφάνισε σημαντική αύξηση από την ημέρα 1 μέχρι τη μέρα 7 ($p=0,012$) και 10 ($p=0,011$) (**Πίνακας 59 & Διάγραμμα 12**).

➤ Η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα SA/PEO/CA) έδειξε αξιοσημείωτη άνοδο από την 1η μέρα στην 7η ($p=0,026$) και στην 10η ($p=0,044$) καθώς και από την 4η στην 7η ($p=0,032$) (**Πίνακας 59 & Διάγραμμα 12**).

➤ Η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) παρουσιάζει στατιστικά σημαντική αύξηση από τη μέρα 1 στη μέρα 7 ($p=0,005$) και στη 10 ($p=0,017$) καθώς και από τη μέρα 4 στη μέρα 7 ($p=0,026$) αφού αυξάνεται αρκετά το πάχος του δέρματος των μυών (**Πίνακας 59 & Διάγραμμα 12**).

➤ Στην ομάδα των μαρτύρων (Control) η ανοδική μεταβολή μεταξύ των ημερών 1-4 ($p=0,002$), 1-7 ($p=0,002$), 1-10 ($p=0,010$) ήταν εμφανής και αξιόλογη βάσει της στατιστικής επεξεργασίας των αποτελεσμάτων (**Πίνακας 59 & Διάγραμμα 12**).

➤ Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), το επίπεδο πάχους της ομάδας 1 (ομάδα με επίθεμα *P.halepensis* 15,1% w/w) είναι σημαντικά υψηλότερο σε σχέση με όλων των υπόλοιπων ομάδων ($p=0,001$, $p=0,020$, $p=0,000$) καθώς και αυτό της ομάδας 4 έναντι της ομάδας 3 ($p=0,046$) (**Πίνακας 60 & Διάγραμμα 12**).

➤ Την 7η ημέρα το δέρμα των μυών της ομάδας 4 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) έχει το στατιστικά μεγαλύτερο πάχος έναντι όλων των υπόλοιπων ομάδων μυών ($p=0,000$), οι οποίες διαφέρουν ελάχιστα μεταξύ τους (**Πίνακας 60 & Διάγραμμα 12**).

- Τέλος, τη 10η ημέρα (τέλος του πειράματος) η διαφορά της ομάδας 5 (Control) είναι αξιοσημείωτη έναντι του πάχους των ομάδων 1 ($p=0,001$) και 3 ($p=0,043$) που τείνει να επιστρέψει στα φυσιολογικά επίπεδα. Ακόμη, δεν μπορεί να παραβλεφθεί η διαφορά του πάχους της ομάδας 1 έναντι αυτού των ομάδων 4 και 2 ($p=0,001$, $p=0,018$) που βρίσκεται σε υψηλότερο επίπεδο. (Πίνακας 60 & Διάγραμμα 12).
- Σε γενικές γραμμές, στην ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 15,1% w/w) τα επίπεδα του πάχους του δέρματος των μυών, μετά από την αύξηση λόγω της φλεγμονής επανήλθε στα αρχικά επίπεδα πριν την ακτινοβολήση (μηδενική μεταβολή πάχους) (Πίνακας 57 & Διάγραμμα 12).

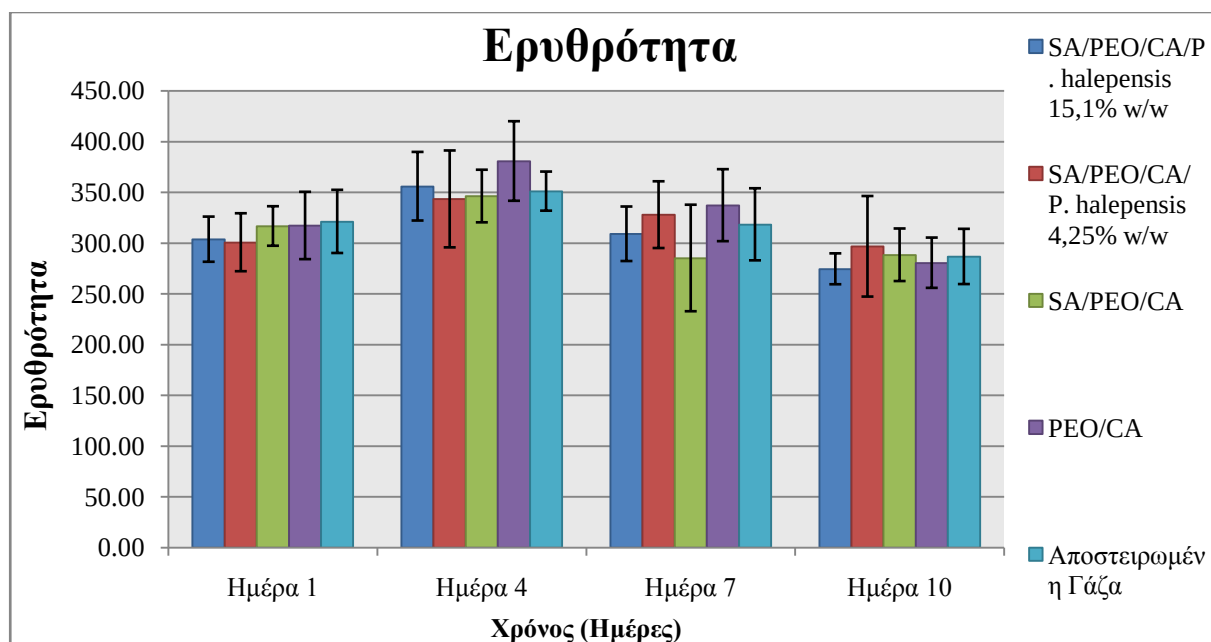
11.6.6. Αποτελέσματα Ερυθρότητας

Ο μέσος όρος (M.O.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ερυθρότητας στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω Πίνακα 61 και στο αντίστοιχο Διάγραμμα 13.

Πίνακας 61. Μέσος όρος τιμών της ερυθρότητας ($\pm$ τυπική απόκλιση) ($n=6$).

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	303,67 ($\pm 22,23$)	355,83 ($\pm 33,78$)	309,00 ($\pm 26,84$)	274,50 ($\pm 15,22$)
2	300,67 ($\pm 28,54$)	343,33 ($\pm 47,71$)	327,83 ($\pm 32,86$)	296,67 ($\pm 49,52$)
3	316,67 ($\pm 19,45$)	346,17 ($\pm 25,90$)	285,17 ($\pm 52,45$)	288,33 ($\pm 25,87$)
4	317,17 ($\pm 33,15$)	380,67 ($\pm 39,17$)	337,17 ($\pm 35,44$)	280,50 ($\pm 24,76$)
5 (Control)	321,17 ($\pm 31,10$)	351,00 ($\pm 19,26$)	318,33 ($\pm 35,49$)	286,67 ($\pm 27,19$)

Διάγραμμα 13. Μεταβολή της ερυθρότητας σε 10 ημέρες: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 62. Ποσοστιαία μεταβολή της ερυθρότητας σε 10 ημέρες.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	-10%
2	-1%
3	-9%
4	-12%
5 (Control)	-11%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της ερυθρότητας ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 63**.

Πίνακας 63. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής ερυθρότητας.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,200	0,200	0,200	0,002	0,865	0,696	0,298	0,190
2	0,048	0,200	0,056	0,200	0,077	0,987	0,193	0,493
3	0,176	0,200	0,149	0,200	0,122	0,726	0,547	0,853
4	0,200	0,082	0,200	0,104	0,087	0,099	0,616	0,994
5 (Control)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,505	0,761	0,912	0,919

Στον **Πίνακα 63** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή ερυθρότητα ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 64**.

Πίνακας 64. Paired t-test για τη σύγκριση της ερυθρότητας μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-15,28	15,84	0,965
	1-7	-2,77	8,00	0,268
	1-10	-9,50	0,84	0,084
	4-7	-11,37	16,03	0,680
	4-10	-16,87	7,65	0,378
	7-10	-14,96	1,07	0,077
2	1-4	3,02	15,76	0,013*
	1-7	-10,02	3,46	0,267
	1-10	-16,28	4,72	0,216
	4-7	-22,86	-2,47	0,024*
	4-10	-22,41	-7,92	0,003*
	7-10	-15,64	10,64	0,645
3	1-4	-10,44	19,78	0,463
	1-7	-16,21	0,54	0,061
	1-10	-19,23	-3,44	0,014*
	4-7	-23,32	-1,68	0,031*
	4-10	-25,69	-6,31	0,008*
	7-10	-10,51	3,51	0,256
4	1-4	-2,07	13,41	0,119
	1-7	-15,96	-4,15	0,007*
	1-10	-19,34	-5,77	0,005*
	4-7	-19,33	-12,11	0,000*
	4-10	-24,46	-11,98	0,001*
	7-10	-9,53	4,53	0,402
5 (Control)	1-4	-7,73	7,51	0,972
	1-7	-12,66	7,22	0,513
	1-10	-10,97	1,42	0,104
	4-7	-6,94	1,72	0,182
	4-10	-13,05	3,72	0,212
	7-10	-11,85	7,74	0,613

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 65**.

Πίνακας 65. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της ερυθρότητας τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,851
	1-3		0,419
	1-4		0,401
	2-3		0,321
	2-4		0,307
	3-4		0,975
	1-5(Control)		0,279
	2-5(Control)		0,207
	3-5(Control)		0,778
	4-5(Control)		0,802
4	1-2	LSD	0,537
	1-3		0,633
	1-4		0,226
	2-3		0,888
	2-4		0,074
	3-4		0,097
	1-5(Control)		0,811
	2-5(Control)		0,705
	3-5(Control)		0,811
	4-5(Control)		0,150
7	1-2	LSD	0,394
	1-3		0,283
	1-4		0,206
	2-3		0,061
	2-4		0,671
	3-4		0,024*
	1-5(Control)		0,671
	2-5(Control)		0,665
	3-5(Control)		0,139
	4-5(Control)		0,394
10	1-2	LSD	0,222
	1-3		0,442
	1-4		0,738
	2-3		0,642
	2-4		0,370
	3-4		0,662
	1-5(Control)		0,498
	2-5(Control)		0,577
	3-5(Control)		0,926
	4-5(Control)		0,731

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 13 & Πίνακες 61-65**) που αφορούν στην ερυθρότητα διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη μείωση της ερυθρότητας εμφάνισε η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) κατά 12% και ακολούθησε η ομάδα 5 (Control) κατά 11% (**Πίνακας 62 & Διάγραμμα 13**).

➤ Στην ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 15,1% w/w) η διακύμανση της ερυθρότητας κατά τη διάρκεια των 10 ημερών του πειράματος δεν παρουσίασε αξιόλογη μεταβολή (**Πίνακας 64 & Διάγραμμα 13**).

➤ Στην ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 4,25% w/w) η ερυθρότητα έδειξε σημαντική ανοδική πορεία από την 1η στην 4η μέρα ($p=0,013$) ενώ αντίθετα μεταξύ των ημερών 4-7 ($p=0,024$) και 4-10 ($p=0,003$) η πτώση της ήταν ιδιαίτερα αισθητή (**Πίνακας 64 & Διάγραμμα 13**).

➤ Η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα SA/PEO/CA), ακολούθησε την πορεία της ομάδας 2: Τα επίπεδα της ερυθρότητάς της ανέβηκαν από την 1η έως την 10η ($p=0,014$) μέρα ενώ μεταξύ ημερών 4-7 ($p=0,031$) και 4-10 ($p=0,008$) όπου η φλεγμονή βρίσκεται σε ύφεση, έχουν πτωτική τάση (**Πίνακας 64 & Διάγραμμα 13**).

➤ Η 4η ομάδα, λόγω της δερματίτιδας από τη φλεγμονή, είχε τη μέγιστη στατιστικά ερυθρότητα μεταξύ των ημερών 4-7 ($p=0,000$) και ιδιαίτερα ανάμεσα στις μέρες 1-7 ($p=0,007$), 1-10 ($p=0,005$), 4-7 ($p=0,000$) και 4-10 ($p=0,008$) η διακύμανσή της ήταν εμφανής και ιδιαίτερα αξιόλογη (**Πίνακας 64 & Διάγραμμα 13**).

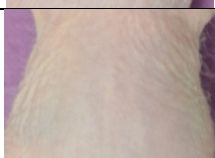
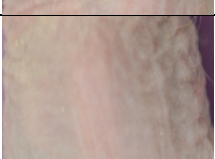
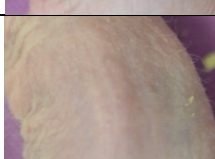
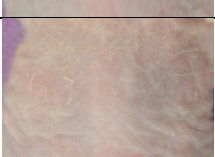
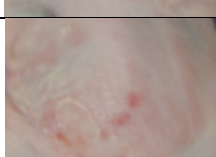
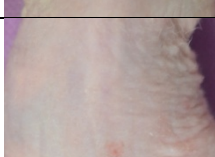
➤ Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), δεν υπάρχουν σημαντικές διαφοροποιήσεις στα επίπεδα ερυθρότητας μεταξύ των ομάδων (**Πίνακας 65 & Διάγραμμα 13**).

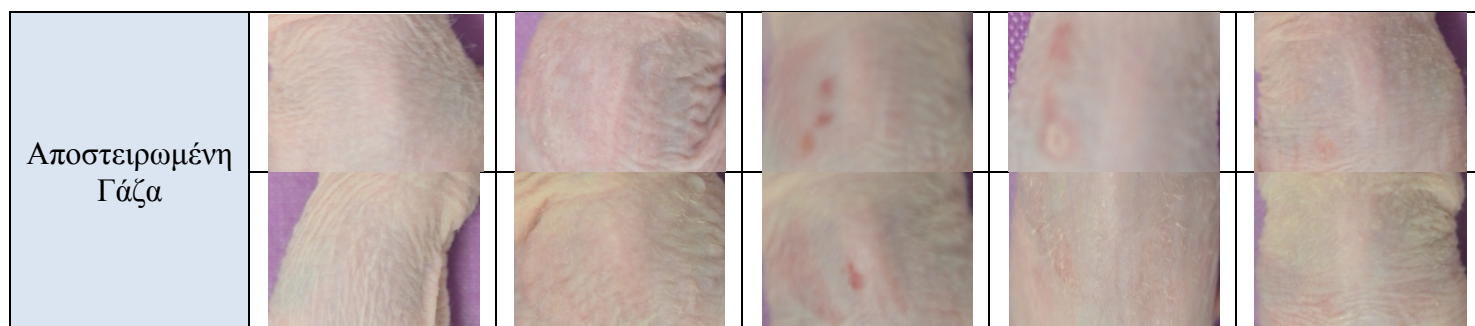
➤ Την 7η ημέρα η 4η ομάδα (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) έχει αρκετά πιο έντονο ερύθημα από ότι η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) ($p=0,024$) κάτι που ενδεχομένως να οφείλεται στη δράση του SA στη θεραπεία της 3ης ομάδας (**Πίνακας 65 & Διάγραμμα 13**).

➤ Τέλος, τη 10η ημέρα (λήξη του πειράματος) οι διαφοροποιήσεις μεταξύ των ομάδων στην ένταση της ερυθρότητας δεν φαίνεται να είναι αξιόλογες (**Πίνακας 65 & Διάγραμμα 13**).

11.6.7. Φωτοτεκμηρίωση

Καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος ελήφθησαν φωτογραφίες από όλα τα ζώα της κάθε ομάδας. Από αυτές 2 ενδεικτικές φωτογραφίες από κάθε ομάδα που πάρθηκαν στην αρχή (ημέρα 1- φυσιολογικοί μύες, ημέρα 3-ακτινοβολημένοι μύες), στη μέση (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) παρατίθενται στην **Εικόνα 25**.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΕΣ				
	1 (Πριν τη UV)	3	4	7	10
SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 15,1% w/w					
					
SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 4,25% w/w					
					
SA/PEO/CA					
					
PEO/CA					
					



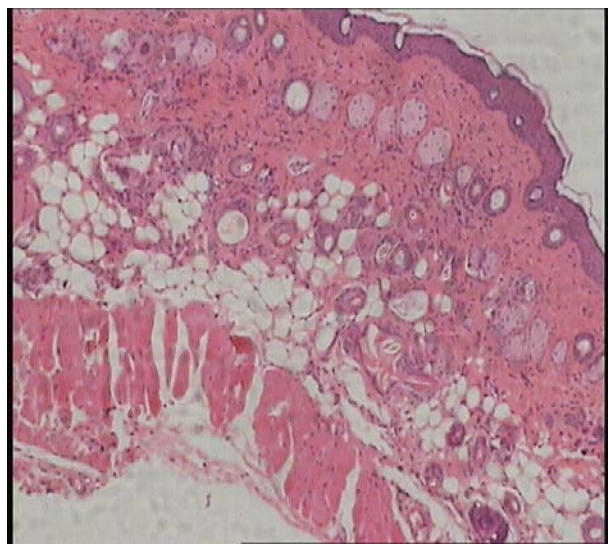
Εικόνα 25. Ενδεικτικές φωτογραφίες κάθε ομάδας τις ημέρες 1, 3, 4, 7, και 10.

Από τη μελέτη της κατάστασης του δέρματος (ερύθημα, οίδημα, ξηροδερμία) των αντίστοιχων πειραματοζώων (ενδεικτικές φωτογραφίες στην Εικόνα 25) συμπεραίνεται ότι:

- Την ημέρα 3 μετά την ακτινοβολήση, έχουν αρχίσει να φαίνονται σταδιακά στοιχεία φλεγμονής, κυρίως ερύθημα σε όλες τις ομάδες.
- Την 4η ημέρα (έξαρση φλεγμονής) παρατηρείται εμφάνιση διάχυτης ερυθρότητας, και ξηροδερμίας (ξεφλούδισμα) σε όλες τις ομάδες ενώ οι ομάδες 4,5 εμφανίζουν και πιο εμφανές οίδημα από τις υπόλοιπες ομάδες (ομάδες 1,2,3). Καλύτερη κλινική εικόνα παρουσιάζουν οι ομάδες 1,2,3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, 4,25% w/w και ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) ενώ η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) και οι μάρτυρες (ομάδα Control) παρουσιάζουν τη χειρότερη.
- Την 7η ημέρα το οίδημα αρχίζει να υποχωρεί. Στις ομάδες με επίθεμα με θεραπευτικό παράγοντα (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, 4,25% w/w και ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) έχει αρχίσει να υποχωρεί ενώ στις ομάδες 4, 5 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA, ομάδα Control) η ένταση του ερυθήματος έχει αυξηθεί. Αυτές οι δύο ομάδες δείχνουν τη χειρότερη κλινική εικόνα..
- Τη 10η και τελευταία ημέρα, το δέρμα των μυών των ομάδων 1, 2, 3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, 4,25% w/w και ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) έχει σχεδόν επανέλθει στη φυσιολογική του κατάσταση ενώ των υπόλοιπων ομάδων (ομάδα 4, μάρτυρες) συνεχίζει να φέρει σημάδια χρόνιας φλεγμονής και ξηροδερμίας.
- Συνολικά, την καλύτερη κλινική εικόνα επέδειξαν οι ομάδες 1,2 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w) με μικρή διαφορά από την ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) ενώ τη μεγαλύτερη επιδείνωση κατά τη διάρκεια του πειράματος εμφάνισαν οι ομάδες 4 και 5 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA, ομάδα Control).

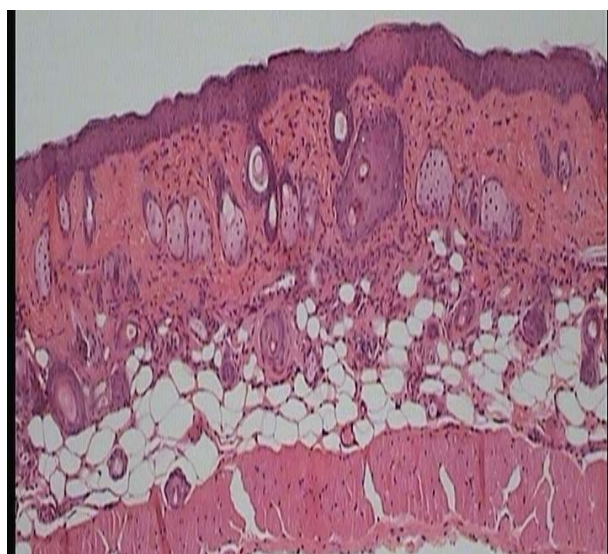
11.6.8. Αποτελέσματα ιστοπαθολογικής μελέτης

Τα δείγματα δέρματος που ελήφθησαν στο τέλος του πειράματος, στάλθηκαν για ιστοπαθολογική αξιολόγηση όπου παρατηρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο από εξειδικευμένο παθολογοανατόμο. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν και βγήκαν συμπεράσματα για τη φλεγμονή, την υπερκεράτωση και τον ερεθισμό. Ακολουθούν ενδεικτικές φωτογραφίες δέρματος από κάθε ομάδα.



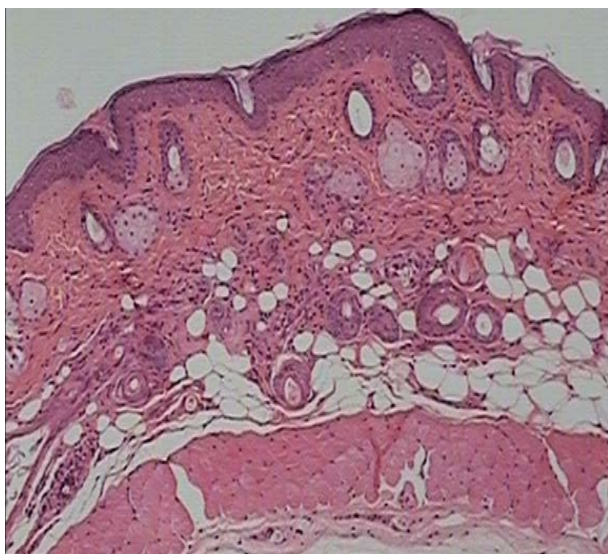
Εικόνα 26. Τομή δέρματος μνός ομάδας 1 (με επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halpensis* 15,1% w/w).

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halpensis* 15,1% w/w παρουσιάζει εικόνα με πολύ αραιή και ελαφριά φλεγμονή στο εν τω βάθει χόριο (αραιά λεμφοκύτταρα) και καλή επιδερμίδα με μικρή υπερκεράτωση (Εικόνα 26).



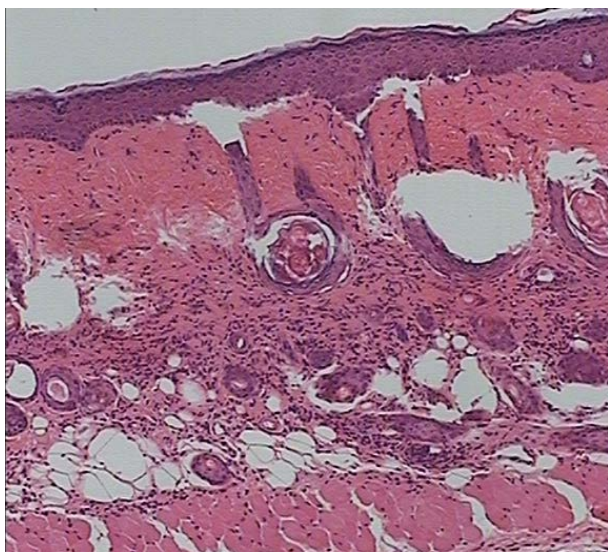
Εικόνα 27. Τομή δέρματος μνός ομάδας 2 (με επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halpensis* 4,25% w/w).

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halpensis* 4,25% w/w παρουσιάζει εικόνα χρόνιας φλεγμονής μεταξύ χορίου-υποδορίου, πιο έντονη και πιο πυκνή από της εικόνας 26. Η ιστοπαθολογική εικόνα αυτής της ομάδας είναι χειρότερη από της ομάδας με το επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halpensis* 15,1% w/w. Και σε αυτή την ομάδα η εικόνα της επιδερμίδας είναι καλή με μικρή υπερκεράτωση (Εικόνα 27).



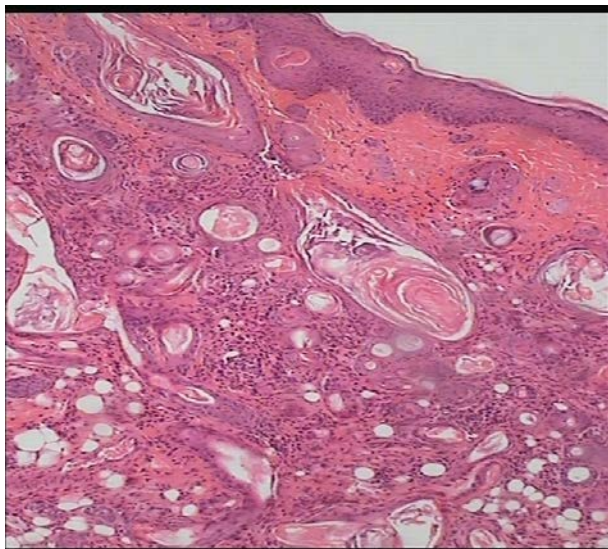
Εικόνα 28. Τομή δέρματος μυός ομάδας 3 (με επίθεμα SA/PEO/CA).

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA παρουσιάζει εικόνα με ήπια (αραιή) χρόνια φλεγμονή (αραιές λεμφοκυτταρικές διηθήσεις) μεταξύ χορίου-υποδορίου, πιο εντοπισμένη σε σχέση με την εικόνα των προηγούμενων ομάδων. Και εδώ η επιδερμίδα είναι καλή με ελαφριά υπερκεράτωση (Εικόνα 28).



Εικόνα 29. Τομή δέρματος μυός ομάδας 4 (με επίθεμα PEO/CA).

Η ομάδα με το επίθεμα PEO/CA δείχνει μέτρια (προς πυκνή) χρόνια λεμφοκυτταρική φλεγμονώδη διήθηση μεταξύ χορίου – υποδορίου και φυσιολογική επιδερμίδα με μικρή υπερκεράτωση. (**Εικόνα 29**). Η εικόνα αυτή είναι χειρότερη από την εικόνα της ομάδας 3 (**Εικόνα 28**).



Εικόνα 30. Τομή δέρματος μύος ομάδας 5, Control (με αποστειρωμένη γάζα).

Η ομάδα των μαρτύρων παρουσιάζει εικόνα με έντονη, χρόνια φλεγμονή (έντονη φλεγμονώδης λεμφοκυτταρική διήθηση) και στο χόριο και στο υποδόριο και φυσιολογική επιδερμίδα με ελαφριά υπερκεράτωση (**Εικόνα 30**). Η ομάδα αυτή έδειξε τη χειρότερη εικόνα από όλες τις ομάδες.

- ❖ Συμπερασματικά, την καλύτερη εικόνα δέρματος επέδειξε απ' όλες τις ομάδες, η ομάδα 1 με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P. halepensis* 15,1% w/w ενώ τη χειρότερη η ομάδα 5 (μάρτυρες).

11.7. Σύγκριση πειραμάτων Α' και Β'

Από τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα των πειραμάτων Α' και Β', εκτιμήθηκε τελικά ότι το καταλληλότερο επίθεμα για την πιο αποτελεσματική αντιμετώπιση της φλεγμονής σε ακτινοβολημένο δέρμα φυσιολογικού μυός είναι το SA/PEO/CA/P. *halepensis*. Έτσι, ακολούθησε η σύγκριση των θεραπειών των δύο πειραμάτων.

Για να είναι δυνατή μια τέτοια σύγκριση, έπρεπε να διασφαλιστεί στατιστικά ότι οι μύες που χρησιμοποιήθηκαν για κάθε ίδια ομάδα στο κάθε πείραμα (π.χ. ομάδα Control πειράματος Α' – ομάδα Control πειράματος Β') δεν είχαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στις αρχικές μετρήσεις πριν την ακτινοβολήση (δηλ. την 1η ημέρα). Τα μεγέθη που βρέθηκαν να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των ίδιων ομάδων των διαφορετικών πειραμάτων, δεν μπορούσαν να συμμετέχουν στη σύγκριση. Τελικά, η σύγκριση των αποτελεσμάτων των θεραπειών των δύο πειραμάτων πραγματοποιήθηκε για τα μεγέθη της TEWL, της Ενυδάτωσης, του Σμήγματος και της Ερυθρότητας.

11.7.1. Αποτελέσματα TEWL

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της TEWL στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος των πειραμάτων (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω **Πίνακα 67** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 14**.

❖ Αξίζει να σημειωθεί ότι από εδώ και πέρα, σε όλους τους πίνακες της σύγκρισης των πειραμάτων Α' και Β', ο αριθμός κάθε ομάδας θα αντιπροσωπεύει και το επίθεμα που χρησιμοποιήθηκε σαν θεραπεία, στην αντίστοιχη ομάδα, σύμφωνα με τον συμβολισμό που υποδεικνύει ο **Πίνακας 66**.

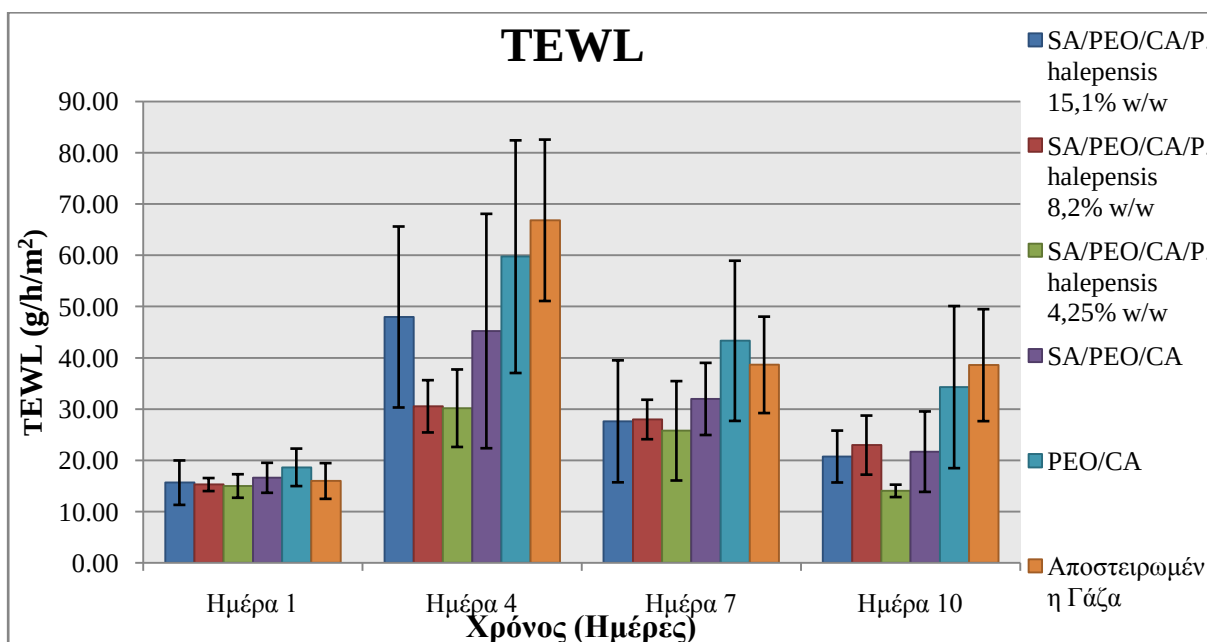
Πίνακας 66. Αντιστοιχία ομάδων-επιθεμάτων κατά τη σύγκριση των δύο πειραμάτων.

Ομάδα	Επίθεμα
1	SA/PEO/CA/P. <i>halepensis</i> 15,1% w/w
2	SA/PEO/CA/P. <i>halepensis</i> 8,2% w/w
3	SA/PEO/CA/P. <i>halepensis</i> 4,25% w/w
4	SA/PEO/CA
5	PEO/CA
6 (Control)	Αποστειρωμένη Γάζα

Πίνακας 67. Μέσος όρος τιμών της TEWL ($\pm$ τυπική απόκλιση) και στα δύο πειράματα.

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	15,65 ($\pm 4,34$)	47,98 ($\pm 17,66$)	27,62 ($\pm 11,90$)	20,75 ($\pm 5,06$)
2	15,28 ($\pm 1,27$)	30,55 ($\pm 5,10$)	27,98 ($\pm 3,85$)	22,98 ($\pm 5,76$)
3	15,00 ($\pm 2,30$)	30,18 ($\pm 7,56$)	25,77 ($\pm 9,70$)	14,05 ($\pm 1,21$)
4	16,60 ($\pm 2,93$)	45,24 ($\pm 22,87$)	31,99 ($\pm 7,04$)	21,70 ($\pm 7,85$)
5	18,64 ($\pm 3,66$)	59,75 ($\pm 22,70$)	43,33 ($\pm 15,63$)	34,30 ($\pm 15,82$)
6 (Control)	15,98 ($\pm 3,49$)	66,85 ($\pm 15,75$)	38,64 ($\pm 9,41$)	38,58 ($\pm 10,92$)

Διάγραμμα 14. Συνολική μεταβολή της TEWL σε 10 ημέρες και στα δύο πειράματα:
Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:.



Πίνακας 68. Συνολική ποσοστιαία μεταβολή της TEWL σε 10 ημέρες και στα δύο πειράματα.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	25%
2	34%
3	-6%
4	24%
5	46%
6 (Control)	59%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της TEWL ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 69**.

Πίνακας 69. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής TEWL.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,200	0,200	0,200	0,002	0,387	0,931	0,334	0,001
2	0,200	0,200	0,200	0,200	0,748	0,474	0,581	0,421
3	0,200	0,200	0,200	0,200	0,949	0,603	0,260	0,933
4	0,200	0,002	0,200	0,104	0,436	0,000	0,947	0,567
5	0,200	0,200	0,200	0,074	0,257	0,976	0,991	0,054
6 (Control)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,500	0,692	0,231	0,289

Στον **Πίνακα 69** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή TEWL

ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 70**.

Πίνακας 70. Paired t-test για τη σύγκριση της TEWL μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 των δύο πειραμάτων, σε κάθε ομάδα

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-50,14	-14,53	0,005*
	1-7	-23,17	-0,76	0,041*
	1-10	-11,72	1,52	0,105
	4-7	2,76	37,97	0,031*
	4-10	12,50	41,97	0,005*
	7-10	-4,45	18,18	0,179
2	1-4	-19,68	-10,86	0,000*
	1-7	-16,73	-8,67	0,000*
	1-10	-13,27	-2,13	0,016*
	4-7	-2,55	7,68	0,254
	4-10	2,84	12,30	0,009*
	7-10	-1,07	11,07	0,088
3	1-4	-21,06	-10,20	0,001*
	1-7	-19,38	-2,15	0,024*
	1-10	-2,54	4,44	0,515
	4-7	-5,10	14,83	0,265
	4-10	8,84	24,33	0,003*
	7-10	0,46	22,97	0,044*
4	1-4	-42,75	-14,54	0,001*
	1-7	-20,01	-10,77	0,000*
	1-10	-10,80	0,60	0,075
	4-7	-1,75	28,25	0,078
	4-10	9,31	37,77	0,004*
	7-10	5,17	15,41	0,001*
5	1-4	-55,44	-26,78	0,000*
	1-7	-34,63	-14,74	0,000*
	1-10	-26,36	-4,95	0,008*
	4-7	4,80	28,05	0,010*
	4-10	16,38	34,52	0,000*
	7-10	0,21	17,84	0,046*
6 (Control)	1-4	-62,23	-39,52	0,000*
	1-7	-28,93	-16,41	0,000*
	1-10	-30,64	-14,54	0,000*
	4-7	15,02	41,39	0,001*
	4-10	16,65	39,92	0,000*
	7-10	-10,17	10,32	0,987

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 71**.

Πίνακας 71. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της TEWL τις ημέρες 1, 4, 7, 10 και των δύο πειραμάτων μεταξύ των ομάδων.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,845
	1-3		0,730
	1-4		0,560
	1-5		0,071
	2-3		0,880
	2-4		0,420
	2-5		0,044
	3-4		0,328
	3-5		0,029
	4-5		0,129
	1-6(Control)		0,842
	2-6(Control)		0,671
	3-6(Control)		0,550
	4-6(Control)		0,639
	5-6(Control)		0,049*
4	1-2	LSD	0,105
	1-3		0,107
	1-4		0,766
	1-5		0,205
	2-3		0,994
	2-4		0,115
	2-5		0,002*
	3-4		0,117
	3-5		0,003*
	4-5		0,058
	1-6(Control)		0,045*
	2-6(Control)		0,000*
	3-6(Control)		0,000*
	4-6(Control)		0,006*
	5-6(Control)		0,347
7	1-2	LSD	0,953
	1-3		0,765
	1-4		0,416
	1-5		0,005*
	2-3		0,720
	2-4		0,456
	2-5		0,006*
	3-4		0,249
	3-5		0,002*
	4-5		0,012*

	1-6(Control)		0,044*
	2-6(Control)		0,051
	3-6(Control)		0,020*
	4-6(Control)		0,133
	5-6(Control)		0,287
10	1-2	LSD	0,708
	1-3		0,263
	1-4		0,854
	1-5		0,011*
	2-3		0,138
	2-4		0,803
	2-5		0,032*
	3-4		0,142
	3-5		0,000*
	4-5		0,004*
	1-6(Control)		0,001*
	2-6(Control)		0,004*
	3-6(Control)		0,000*
	4-6(Control)		0,000*
	5-6(Control)		0,313

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 14 & Πίνακες 67-71**) που αφορούν στην TEWL διαπιστώνεται ότι:

- Η πορεία των τιμών της TEWL σε όλες τις ομάδες έως την 4η ημέρα (έξαρση φλεγμονής) είναι ανοδική ενώ από εκεί και έπειτα οι τιμές όλων των ομάδων ακολουθούν καθοδική πορεία (**Διάγραμμα 14**).
- Οι ομάδες 1,2,3,4, (ομάδες με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2%, ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) διαφέρουν στατιστικά τις μέρες 1-4, 1-7 όπου σημειώνεται άνοδος της TEWL καθώς και τις μέρες 4-10 και 7-10 όπου είναι αισθητή η πτώση του ποσοστού της TEWL σε κάθε ομάδα. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι την 7η ημέρα υπάρχει βελτίωση της TEWL σε όλες τις ομάδες σε σύγκριση με την 4η ημέρα παρόλο που ο επιδερμικός φραγμός δεν επανέρχεται πλήρως στη φυσιολογική του κατάσταση (τιμές ημέρας 1) (**Πίνακας 70 & Διάγραμμα 14**).
- Οι ομάδες 5,6 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA, ομάδα Control) παρουσιάζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις στα επίπεδα της TEWL όλες τις ημέρες του πειράματος. Αυτό σημαίνει ότι σε αυτές ο φραγμός υπέστη τη μεγαλύτερη βλάβη κάτι το οποίο δικαιολογείται από την απουσία ουσιαστικής θεραπείας από αυτές (**Πίνακας 70 & Διάγραμμα 14**).

- Τη μεγαλύτερη αύξηση της TEWL εμφάνισε η ομάδα 6 (μάρτυρες) κατά 59%, ακολουθούμενη από την ομάδα 5 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) κατά 46% (**Πίνακας 68 & Διάγραμμα 14**).
- Την 4η ημέρα (έξαρση φλεγμονής), τη μεγαλύτερη αύξηση της TEWL παρουσιάζει η ομάδα 6 (Control) που διαφέρει στατιστικά πάρα πολύ από τις ομάδες 1,2,3,4 (ομάδες με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w, επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w, επίθεμα με SA/PEO/CA) ($p=0,045$, $p=0,000$, $p=0,000$, $p=0,006$) που εμφανίζουν αρκετά χαμηλότερα επίπεδα TEWL. Ακόμη, την ίδια μέρα, φαίνεται ότι και στην ομάδα 5 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) οι τιμές της άδηλης απώλειας είναι ιδιαίτερα υψηλές, διαφέροντας σημαντικά από αυτές των ομάδων 2,3 ($p=0,002$, $p=0,003$) (**Πίνακας 71 & Διάγραμμα 14**).
- Κατά συνέπεια, την 4η ημέρα, μεγαλύτερη επιδείνωση της βλάβης παρουσιάζει η ομάδα 6 (μάρτυρες) ενώ την καλύτερη εικόνα δίνει οι ομάδες 2,3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w και 4,25% w/w). Πιθανότατα, η δραστική ουσία *P. halepensis* παρουσιάζει ιδιότητες που αναστέλλουν (και ενδεχομένως προλαμβάνουν) την εμφάνιση της φλεγμονής στα αρχικά στάδια (το αυξημένο ποσοστό της ομάδας 1 επηρεάστηκε πιθανότατα από κάποια ακραία τιμή) (**Πίνακας 71 & Διάγραμμα 14**).
- Την 7η μέρα, η ομάδα 5 είναι αυτή που έχει στατιστικά τα υψηλότερα επίπεδα TEWL από τις υπόλοιπες ομάδες 1,2,3,4 (ομάδες με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, επίθεμα με *P. halepensis* 8,1% w/w, επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w επίθεμα με SA/PEO/CA, μάρτυρες) ($p=0,005$, $p=0,006$, $p=0,002$, $p=0,012$) ακολουθούμενη από την ομάδα των μαρτύρων η οποία απέχει αρκετά από τις ομάδες 1,3 ($p=0,044$, $p=0,020$). Όμως, στο σύνολό τους όλες οι ομάδες έχουν μειωθεί από την 4η μέρα (**Πίνακας 71 & Διάγραμμα 14**).
- Τη 10η και τελευταία μέρα ημέρα η ομάδα 6 ακολουθούμενη από την ομάδα 5 έχουν το υψηλότερο ποσοστό TEWL. Η διαφορά του ποσοστού αυτών των 2 ομάδων από αυτού των ομάδων 1,2,3,4 είναι στατιστικά αξιόλογη ($p=0,001$, $p=0,004$, $p=0,000$, $p=0,000$, $p=0,011$, $p=0,032$, $p=0,000$, $p=0,004$) (**Πίνακας 71 & Διάγραμμα 14**).

Καταλήγοντας, συμπεραίνεται ότι η ομάδα των μαρτύρων εμφάνισε τη μεγαλύτερη βλάβη καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

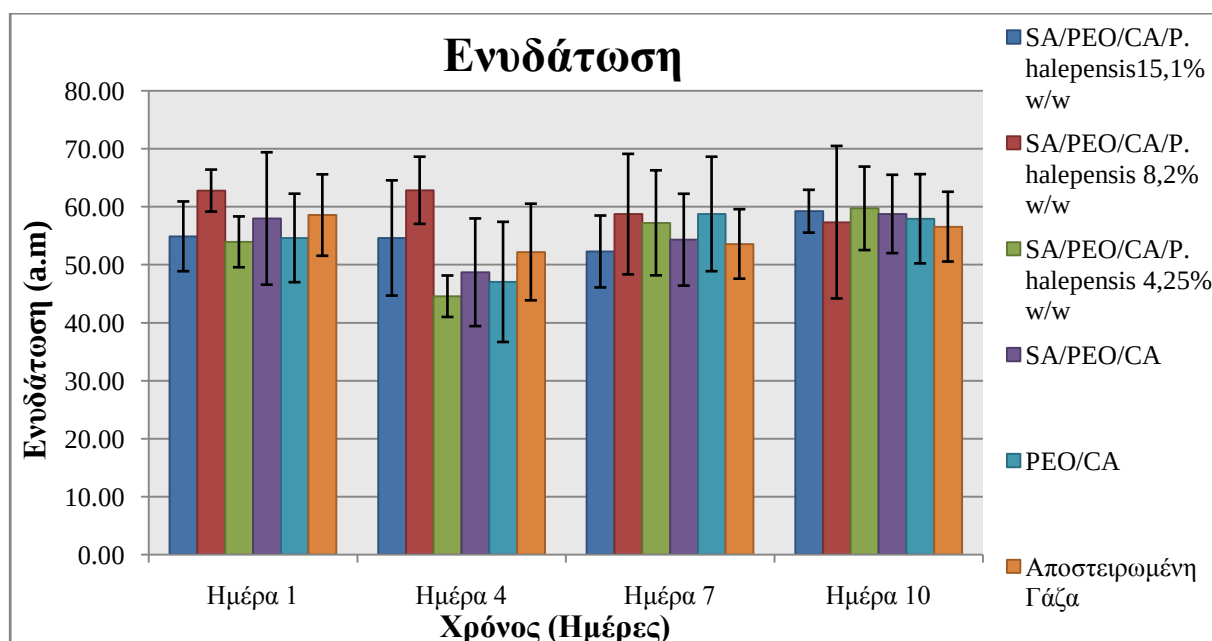
11.7.2. Αποτελέσματα Ενυδάτωσης

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ενυδάτωσης στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος των πειραμάτων (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω **Πίνακα 72** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 15**.

Πίνακας 72. Μέσος όρος τιμών της ενυδάτωσης ($\pm$ τυπική απόκλιση) και στα δύο πειράματα.

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	54,89 ($\pm 6,02$)	54,61 ($\pm 9,94$)	52,28 ($\pm 6,20$)	59,22 ($\pm 3,64$)
2	62,78 ($\pm 3,62$)	62,83 ($\pm 5,79$)	58,72 ($\pm 10,39$)	57,33 ($\pm 13,15$)
3	53,94 ($\pm 4,38$)	44,56 ($\pm 3,58$)	57,22 ($\pm 9,06$)	59,72 ($\pm 7,20$)
4	57,97 ($\pm 11,42$)	48,69 ($\pm 9,29$)	54,31 ($\pm 7,92$)	58,75 ($\pm 6,76$)
5	54,61 ($\pm 7,63$)	47,03 ($\pm 10,36$)	58,75 ($\pm 9,87$)	57,92 ($\pm 7,70$)
6 (Control)	58,56 ($\pm 7,02$)	52,19 ($\pm 8,33$)	53,58 ($\pm 5,99$)	56,56 ($\pm 6,02$)

Διάγραμμα 15. Μεταβολή της ενυδάτωσης σε 10 ημέρες και στα δύο πειράματα: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:.



Πίνακας 73. Ποσοστιαία μεταβολή της ενυδάτωσης σε 10 ημέρες και στα δύο πειράματα.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	7%
2	-9%
3	10%
4	1%
5	6%
6 (Control)	-3%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της ενυδάτωσης ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 74**.

Πίνακας 74. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής ενυδάτωσης.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,148	0,200	0,200	0,200	0,311	0,254	0,399	0,428
2	0,200	0,200	0,200	0,200	0,190	0,521	0,657	0,994
3	0,200	0,200	0,042	0,039	0,466	0,751	0,108	0,139
4	0,022	0,200	0,200	0,200	0,057	0,998	0,044	0,532
5	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,739	0,922	0,992
6 (Control)	0,200	0,200	0,200	0,200	0,574	0,994	0,140	0,323

Στον **Πίνακα 74** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή ενυδάτωσης ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 73**.

Πίνακας 75. Paired t-test για τη σύγκριση της ενυδάτωσης μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 και στα δύο πειράματα, σε κάθε ομάδα

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-15,28	15,84	0,965
	1-7	-2,77	8,00	0,268
	1-10	-9,50	0,84	0,084
	4-7	-11,37	16,03	0,680
	4-10	-16,87	7,65	0,378
	7-10	-14,96	1,07	0,077
2	1-4	-7,53	7,42	0,985
	1-7	-7,77	15,89	0,419
	1-10	-8,05	18,94	0,347
	4-7	-3,10	11,32	0,203
	4-10	-5,05	16,05	0,238
	7-10	-6,65	9,43	0,676
3	1-4	3,02	15,76	0,013*
	1-7	-10,02	3,46	0,267
	1-10	-16,28	4,72	0,216
	4-7	-22,86	-2,47	0,024*
	4-10	-22,41	-7,92	0,003*
	7-10	-15,64	10,64	0,645
4	1-4	-0,65	19,20	0,064
	1-7	-7,35	14,68	0,479
	1-10	-9,68	8,13	0,851
	4-7	-12,91	1,69	0,119
	4-10	-16,40	-3,71	0,005*
	7-10	-9,80	0,91	0,095
5	1-4	0,19	14,98	0,045*
	1-7	-13,90	5,62	0,371
	1-10	-10,52	3,91	0,335
	4-7	-22,68	-0,76	0,038*
	4-10	-20,29	-1,48	0,027*
	7-10	-4,81	6,47	0,751
6 (Control)	1-4	-1,05	13,78	0,086
	1-7	-2,31	12,25	0,161
	1-10	-3,96	7,96	0,476
	4-7	-5,63	2,85	0,486
	4-10	-10,19	1,47	0,128
	7-10	-7,63	1,68	0,187

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 76**.

Πίνακας 76. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της ενυδάτωσης τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων, και στα δύο πεθράματα.

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,088
	1-3		0,836
	1-4		0,436
	1-5		0,944
	2-3		0,057
	2-4		0,227
	2-5		0,043*
	3-4		0,310
	3-5		0,866
	4-5		0,300
	1-6(Control)		0,355
	2-6(Control)		0,288
	3-6(Control)		0,246
	4-6(Control)		0,856
	5-6(Control)		0,225
4	1-2	LSD	0,107
	1-3		0,050
	1-4		0,179
	1-5		0,087
	2-3		0,001*
	2-4		0,002*
	2-5		0,001*
	3-4		0,345
	3-5		0,572
	4-5		0,640
	1-6(Control)		0,580
	2-6(Control)		0,018*
	3-6(Control)		0,085
	4-6(Control)		0,328
	5-6(Control)		0,151
7	1-2	LSD	0,185
	1-3		0,307
	1-4		0,627
	1-5		0,125
	2-3		0,755
	2-4		0,292
	2-5		0,995
	3-4		0,485
	3-5		0,714
	4-5		0,195
	1-6(Control)		0,754
	2-6(Control)		0,221
	3-6(Control)		0,384
	4-6(Control)		0,832

	5-6(Control)		0,133
10	1-2	LSD	0,667
	1-3		0,909
	1-4		0,901
	1-5		0,731
	2-3		0,587
	2-4		0,710
	2-5		0,878
	3-4		0,798
	3-5		0,635
	4-5		0,788
	1-6(Control)		0,484
	2-6(Control)		0,838
	3-6(Control)		0,406
	4-6(Control)		0,481
	5-6(Control)		0,661

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 15 & Πίνακες 72-76**) που αφορούν στην ενυδάτωση διαπιστώνεται ότι:

- Τη μεγαλύτερη αύξηση της ενυδάτωσης εμφάνισε η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w) (**Πίνακας 73 & Διάγραμμα 15**).
- Η ομάδα 3(ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 4,25% w/w) την 4η μέρα παρουσίασε σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της ενυδάτωσης της σε σχέση με την 1η ($p=0,013$), την 7η ($p=0,024$) και τη 10η μέρα ($p=0,003$) που είναι στατιστικά αρκετά υψηλότερα (**Πίνακας 75 & Διάγραμμα 15**).
- Η 4η ομάδα (ομάδα με επίθεμα SA/PEO/CA) φαίνεται ότι παρουσιάζει σημαντική αύξηση ποσοστού ενυδάτωσης στο δέρμα των μυών από τη μέρα 4 στη μέρα 10 ($p=0,005$). Μάλιστα, στο τέλος των πειραμάτων η ενυδάτωση της ομάδας 4 έχει σχεδόν επιστρέψει στα αρχικά επίπεδα. (**Πίνακας 75 & Διάγραμμα 15**).
- Η ομάδα 5 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) την 4η μέρα παρουσίασε σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της ενυδάτωσης της σε σχέση με την 1η, ($p=0,045$) την 7η ($p=0,119$) και τη 10η μέρα ($p=0,027$) που είναι στατιστικά αρκετά υψηλότερα (**Πίνακας 75 & Διάγραμμα 15**).
- Η 6η ομάδα (Control) μέχρι το τέλος του πειράματος εμφάνισε μείωση του ποσοστού ενυδάτωσης κατά 3% ακολουθώντας την ενυδάτωση της ομάδας 2 που μειώθηκε κατά 9% (**Πίνακας 75 & Διάγραμμα 15**).

- Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής) το ποσοστό ενυδάτωσης στους μύες της ομάδας 2 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) είναι σημαντικά υψηλότερο από τα επίπεδα ενυδάτωσης όλων των υπόλοιπων ομάδων ($p=0,001$, $p=0,002$, $p=0,001$, $p=0,018$) πλην της ομάδας 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w) (Πίνακας 76 & Διάγραμμα 15).
- Την 7η ημέρα που αρχίζει η φλεγμονή να υποχωρεί, οι μύες όλων των ομάδων δεν έχουν αξιόλογες διαφοροποιήσεις στην ενυδάτωση του δέρματος τους (Πίνακας 76 & Διάγραμμα 15).
- Τέλος, τη 10η ημέρα οι διαφορές στα ποσοστά ενυδάτωσης μεταξύ των ομάδων συνεχίζουν να παραμένουν αμελητέες (Πίνακας 76 & Διάγραμμα 15).
- Σε γενικές γραμμές, η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 4,25% w/w) παρουσίασε το υψηλότερο επίπεδο ενυδάτωσης συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες, καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων (Διάγραμμα 15).

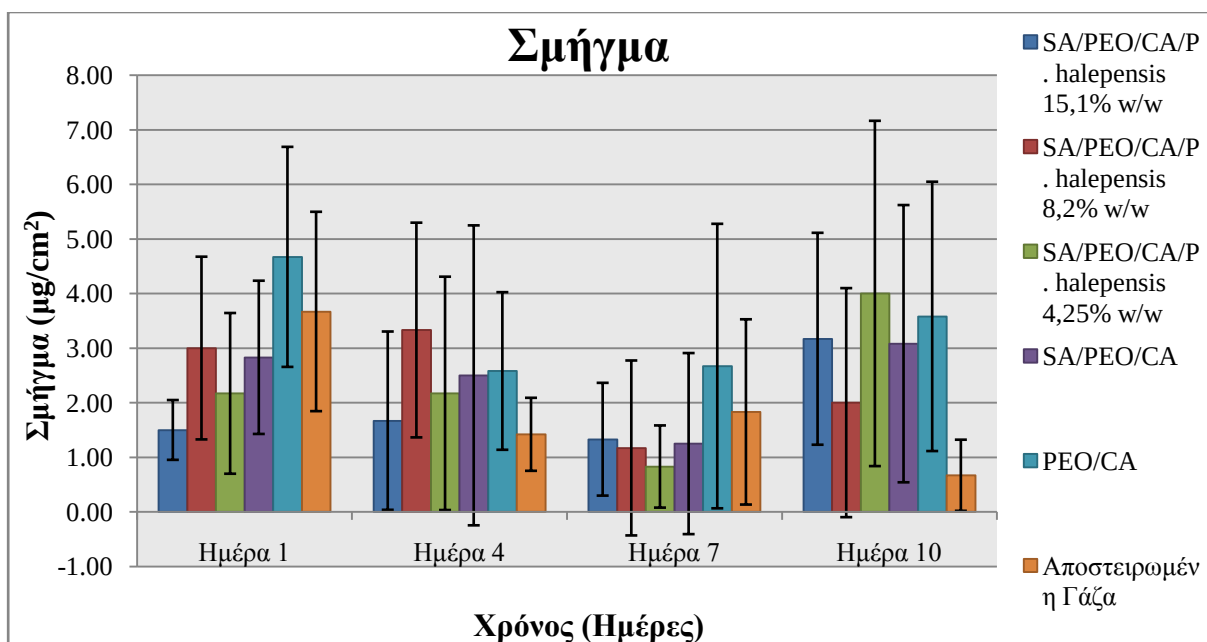
11.7.3. Αποτελέσματα Σμήγματος

Ο μέσος όρος (Μ.Ο.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων του σμήγματος στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος των πειραμάτων (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω Πίνακα 77 και στο αντίστοιχο Διάγραμμα 16

Πίνακας 77 Μέσος όρος τιμών του σμήγματος ($\pm$ τυπική απόκλιση) και στα δύο πειράματα

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	1,50 ($\pm 0,55$)	1,67 ($\pm 1,63$)	1,33 ($\pm 1,03$)	3,17 ($\pm 1,94$)
2	3,00 ($\pm 1,67$)	3,33 ($\pm 1,97$)	1,17 ($\pm 1,60$)	2,00 ($\pm 2,10$)
3	2,17 ($\pm 1,47$)	2,17 ($\pm 2,14$)	0,83 ($\pm 0,75$)	4,00 ($\pm 3,16$)
4	2,83 ($\pm 1,40$)	2,50 ($\pm 2,75$)	1,25 ($\pm 1,66$)	3,08 ($\pm 2,54$)
5	4,67 ($\pm 2,02$)	2,58 ($\pm 1,44$)	2,67 ($\pm 2,61$)	3,58 ($\pm 2,47$)
6 (Control)	3,67 ($\pm 1,83$)	1,42 ($\pm 0,67$)	1,83 ($\pm 1,70$)	0,67 ($\pm 0,65$)

Διάγραμμα 16. Μεταβολή του σμήγματος σε 10 ημέρες και στα δύο πειράματα: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:.



Πίνακας 78. Ποσοστιαία μεταβολή του σμήγματος σε 10 ημέρες και στα δύο πειράματα.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	53%
2	-33%
3	46%
4	8%
5	-23%
6 (Control)	-82%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές του σμήγματος ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 79**.

Πίνακας 79. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής σμήγματος.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,056	0,000	0,117	0,200	0,004	0,000	0,473	0,452
2	0,004	0,200	0,200	0,036	0,006	0,557	0,070	0,075
3	0,136	0,200	0,200	0,036	0,022	0,317	0,212	0,104
4	0,099	0,000	0,002	0,039	0,187	0,005	0,003	0,113
5	0,200	0,054	0,200	0,200	0,973	0,073	0,171	0,295
6 (Control)	0,064	0,002	0,015	0,011	0,003	0,004	0,020	0,006

Στον **Πίνακα 79** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή TEWL ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 80**.

Πίνακας 80. Paired t-test για τη σύγκριση του σμήγματος μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα, και στα δύο πειράματα:

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-2,20	1,87	0,842
	1-7	-1,23	1,56	0,771
	1-10	-3,62	0,29	0,080
	4-7	-0,75	1,42	0,465
	4-10	-4,80	1,80	0,296
	7-10	-4,83	1,17	0,177
2	1-4	-2,70	2,03	0,732
	1-7	-0,51	4,17	0,100
	1-10	-2,51	4,51	0,497
	4-7	-0,68	5,02	0,108
	4-10	-2,22	4,89	0,379
	7-10	-3,90	2,24	0,517
3	1-4	-2,10	2,10	1,000
	1-7	-0,73	3,40	0,158
	1-10	-6,31	2,64	0,340
	4-7	-1,21	3,88	0,235
	4-10	-6,16	2,49	0,325
	7-10	-6,51	0,18	0,059
4	1-4	-1,13	1,80	0,627
	1-7	0,02	3,15	0,048*
	1-10	-1,79	1,29	0,727
	4-7	-1,11	3,61	0,269
	4-10	-2,26	1,10	0,461
	7-10	-3,86	0,19	0,072
5	1-4	0,69	3,48	0,007*
	1-7	0,62	3,38	0,009*
	1-10	-0,68	2,85	0,204
	4-7	-1,97	1,80	0,924
	4-10	-2,53	0,53	0,179
	7-10	-2,99	1,15	0,351
6 (Control)	1-4	1,03	3,47	0,002*
	1-7	0,35	3,31	0,020*
	1-10	1,57	4,43	0,001*
	4-7	-1,48	0,65	0,408
	4-10	0,08	1,42	0,032*
	7-10	-0,07	2,40	0,062

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 80**.

Πίνακας 81. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών του σμήγματος τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων, και στα δύο πειράματα:

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,120
	1-3		0,485
	1-4		0,111
	1-5		0,000*
	2-3		0,384
	2-4		0,840
	2-5		0,048*
	3-4		0,421
	3-5		0,004*
	4-5		0,009*
	1-6(Control)		0,011*
	2-6(Control)		0,421
	3-6(Control)		0,074
	4-6(Control)		0,220
	5-6(Control)		0,142
4	1-2	LSD	0,128
	1-3		0,644
	1-4		0,375
	1-5		0,330
	2-3		0,283
	2-4		0,375
	2-5		0,424
	3-4		0,722
	3-5		0,656
	4-5		0,913
	1-6(Control)		0,789
	2-6(Control)		0,045*
	3-6(Control)		0,424
	4-6(Control)		0,160
	5-6(Control)		0,131
7	1-2	LSD	0,874
	1-3		0,635
	1-4		0,927
	1-5		0,148
	2-3		0,751
	2-4		0,927
	2-5		0,104
	3-4		0,648
	3-5		0,049*
	4-5		0,061
	1-6(Control)		0,584
	2-6(Control)		0,465
	3-6(Control)		0,275
	4-6(Control)		0,434
	5-6(Control)		0,266
10	1-2	LSD	0,364
	1-3		0,516
	1-4		0,940
	1-5		0,707
	2-3		0,123
	2-4		0,331

	2-5	0,157
	3-4	0,410
	3-5	0,707
	4-5	0,581
	1-6(Control)	0,028*
	2-6(Control)	0,232
	3-6(Control)	0,004*
	4-6(Control)	0,010*
	5-6(Control)	0,002*

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 16 & Πίνακες 77-81**) που αφορούν στο σμήγμα διαπιστώνεται ότι:

➤ Τη μεγαλύτερη μείωση σμήγματος εμφάνισε η ομάδα των μαρτύρων (ομάδα Control) κατά 82% (**Πίνακας 78 & Διάγραμμα 16**).

➤ Στην ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) το σμήγμα είχε σημαντική μείωση από τη μέρα 1 στη μέρα 7 ($p=0,048$) (**Πίνακας 80 & Διάγραμμα 16**).

➤ Στην ομάδα 5 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) η καθοδική πορεία του σμήγματος μεταξύ των ημερών 1-4 ($p=0,007$) και 1-7 ($p=0,009$) είναι εμφανής και υπολογίσιμη (**Πίνακας 80 & Διάγραμμα 16**).

➤ Η ομάδα των μαρτύρων (ομάδα 6) παρουσίασε στατιστικά σημαντική μείωση του σμήγματός της από τη μέρα 1 στις μέρες 4,7 και 10 ($p=0,002$, $p=0,020$, $p=0,001$) καθώς και μεταξύ των ημερών 4-10 ($p=0,032$) λόγω της ύπαρξης εντονότερης φλεγμονής σε σχέση με τις άλλες ομάδες (ομάδες 1,2,3,4). Μάλιστα, στο τέλος των πειραμάτων το δέρμα των μυών στις ομάδες Control φαίνεται ότι είχε το λιγότερο σμήγμα από όλες τις υπόλοιπες ομάδες (ενδεχομένως λόγω της ύπαρξης ξηροδερμίας) (**Πίνακας 80 & Διάγραμμα 16**).

➤ Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), η ομάδα 6 (ομάδα με γάζα, Control) εμφανίζει τη λιγότερη ποσότητα σμήγματος στο δέρμα των μυών (ενδεχομένως λόγω της ξηροδερμίας από τη φλεγμονή), από όλες τις ομάδες. Μάλιστα, η διαφορά της σε σχέση με την ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) είναι αξιόλογη ($p=0,045$) (**Πίνακας 81 & Διάγραμμα 16**).

➤ Την 7η ημέρα που αρχίζει η φλεγμονή να υποχωρεί, η ομάδα 5 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) παρουσιάζει τα μεγαλύτερα επίπεδα σμήγματος σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες με

στατιστικά σημαντική διαφορά από το επίπεδο σμήγματος της ομάδας 3 ($p=0,049$) (**Πίνακας 81 & Διάγραμμα 16**).

➤ Τέλος, τη 10η ημέρα η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w) παρουσιάζει το υψηλότερο επίπεδο σμήγματος από όλες τις ομάδες εμφανίζοντας στατιστικά σημαντικότερη διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων (ομάδα 6) ($p=0,028$, $p=0,004$, $p=0,010$, $p=0,002$) οποία τελικά δείχνει να έχει το χαμηλότερο ποσοστό σμήγματος στο τέλος των δύο πειραμάτων (**Πίνακας 81 & Διάγραμμα 16**).

➤ Συνοπτικά, η ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w) παρουσίασε τη μεγαλύτερη αύξηση σμήγματος (53%) συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες ενώ η ομάδα των μαρτύρων εμφάνισε τη μεγαλύτερη μείωση σμήγματος (82%) από όλες τις ομάδες (**Πίνακας 78 & Διάγραμμα 16**).

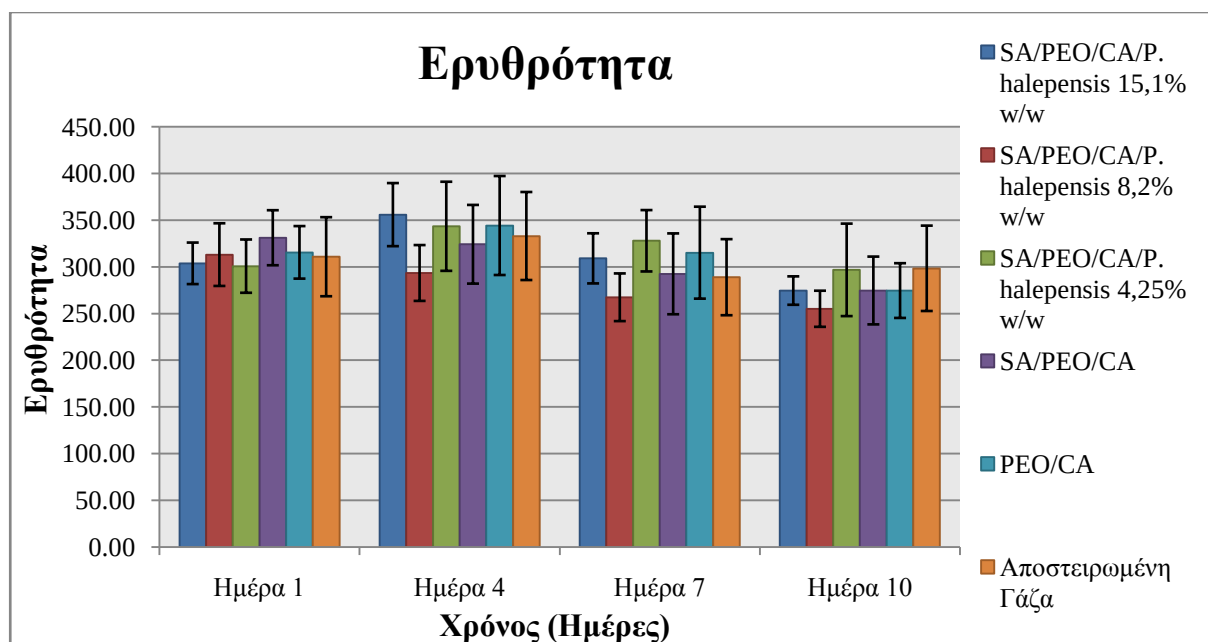
11.7.4. Αποτελέσματα Ερυθρότητας

Ο μέσος όρος (M.O.) και η τυπική απόκλιση (STDEV) των μετρήσεων της ερυθρότητας στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες), στη μέγιστη φλεγμονή (ημέρα 4, 7) και στο τέλος των πειραμάτων (ημέρα 10) δίνονται στον παρακάτω **Πίνακα 82** και στο αντίστοιχο **Διάγραμμα 17**.

Πίνακας 82. Μέσος όρος τιμών της ερυθρότητας ($\pm$ τυπική απόκλιση) και στα δύο πειράματα.

Ομάδα	Ημέρα 1	Ημέρα 4	Ημέρα 7	Ημέρα 10
1	303,67 ($\pm 22,23$)	355,83 ($\pm 33,78$)	309,00 ($\pm 26,84$)	274,50 ($\pm 15,22$)
2	313,00 ($\pm 33,56$)	293,33 ($\pm 29,90$)	267,33 ($\pm 25,53$)	255,00 ($\pm 19,34$)
3	300,67 ($\pm 28,54$)	343,33 ($\pm 47,71$)	327,83 ($\pm 32,86$)	296,67 ($\pm 49,52$)
4	331,08 ($\pm 29,47$)	324,08 ($\pm 42,13$)	292,42 ($\pm 43,30$)	274,58 ($\pm 36,30$)
5	315,42 ($\pm 28,13$)	344,17 ($\pm 53,00$)	315,08 ($\pm 49,24$)	274,50 ($\pm 29,31$)
6 (Control)	310,75 ($\pm 42,33$)	332,92 ($\pm 47,14$)	288,83 ($\pm 40,74$)	298,33 ($\pm 45,71$)

Διάγραμμα 17. Μεταβολή της ερυθρότητας σε 10 ημέρες και στα δύο πειράματα: Ενδεικτικά οι σημαντικότερες μεταβολές:



Πίνακας 83. Ποσοστιαία μεταβολή της ερυθρότητας σε 10 ημέρες και στα δύο πειράματα.

Ομάδα	Ποσοστιαία μεταβολή
1	-10%
2	-19%
3	-1%
4	-17%
5	-13%
6 (Control)	-4%

Εξετάστηκε αν και κατά πόσο οι τιμές της ερυθρότητας ακολουθούν κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov (K-S) και Shapiro – Wilk (S-W). Τα αποτελέσματα αυτής της διερεύνησης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 84**.

Πίνακας 84. Τιμές κριτηρίων K-S και S-W για τις τιμές της μεταβλητής ερυθρότητας.

Ομάδα	Ημέρα							
	Kolmogorov – Smirnov				Shapiro – Wilk			
	1	4	7	10	1	4	7	10
1	0,200	0,200	0,200	0,200	0,865	0,696	0,298	0,190
2	0,200	0,200	0,200	0,200	0,972	0,599	0,666	0,996
3	0,048	0,200	0,056	0,200	0,077	0,987	0,193	0,493
4	0,098	0,200	0,200	0,200	0,232	0,415	0,923	0,794
5	0,010	0,054	0,200	0,200	0,014	0,056	0,791	0,987
6 (Control)	0,200	0,067	0,200	0,200	0,080	0,034	0,580	0,341

Στον **Πίνακα 84** φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η τιμή της σημαντικότητας του ελέγχου S-W είναι μεγαλύτερη του 0,05, συνεπώς δεν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση της κανονικότητας των δεδομένων και μπορεί να θεωρηθεί ότι η μεταβλητή ερυθρότητα ακολουθεί κανονική κατανομή. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι ανάλυσης (Paired t-test και ANOVA).

Τα αποτελέσματα των ζευγαρωτών παραμετρικών ελέγχων t-test (paired t-test) απεικονίζονται στον **Πίνακα 85**.

Πίνακας 85. Paired t-test για τη σύγκριση της ερυθρότητας μεταξύ των ημερών 1, 4, 7 και 10 σε κάθε ομάδα και στα δύο πειράματα:

Ομάδα	Σύγκριση Ημερών	Ελάχιστο	Μέγιστο	p
1	1-4	-88,47	-15,87	0,014*
	1-7	-36,53	25,86	0,679
	1-10	1,57	56,76	0,042*
	4-7	5,48	88,19	0,033*
	4-10	55,92	106,74	0,000*
	7-10	-2,14	71,14	0,060
2	1-4	-34,40	73,74	0,393
	1-7	1,70	89,63	0,044*
	1-10	28,55	87,45	0,004*
	4-7	-23,94	75,94	0,238
	4-10	-6,34	83,01	0,079
	7-10	-21,51	46,17	0,392
3	1-4	-83,14	-2,19	0,042*
	1-7	-63,45	9,12	0,112
	1-10	-48,94	56,94	0,854
	4-7	-50,57	81,57	0,573
	4-10	-6,89	100,22	0,075
	7-10	-23,00	85,33	0,199
4	1-4	-29,87	43,87	0,684
	1-7	6,86	70,47	0,022*
	1-10	25,80	87,20	0,002*
	4-7	0,88	62,45	0,045*
	4-10	28,22	70,78	0,000*
	7-10	-12,27	47,93	0,219
5	1-4	-64,53	7,03	0,105
	1-7	-33,47	34,13	0,983
	1-10	21,70	60,13	0,001*
	4-7	-10,79	68,96	0,137
	4-10	31,40	107,93	0,002*
	7-10	8,86	72,30	0,017*
6 (Control)	1-4	-54,19	9,86	0,156
	1-7	-16,65	60,48	0,237
	1-10	-31,27	56,10	0,544
	4-7	16,91	71,26	0,004*
	4-10	-0,35	69,52	0,052
	7-10	-47,31	28,31	0,591

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς κατά ένα παράγοντα (One way-ANOVA) που βρέθηκαν να είναι σημαντικά με $p \leq 0.05$ απεικονίζονται στον **Πίνακα 86**.

Πίνακας 86. One way-ANOVA βάσει κριτηρίου LSD (λόγω μεγαλύτερης ευαισθησίας) για σύγκριση των τιμών της ερυθρότητας τις ημέρες 1, 4, 7, 10 μεταξύ των ομάδων και στα δύο πειράματα:

Ημέρα	Σύγκρισης Ομάδων	Κριτήριο	p
1	1-2	LSD	0,619
	1-3		0,873
	1-4		0,096
	1-5		0,471
	2-3		0,512
	2-4		0,269
	2-5		0,882
	3-4		0,066
	3-5		0,366
	4-5		0,241
	1-6(Control)		0,663
	2-6(Control)		0,890
	3-6(Control)		0,536
	4-6(Control)		0,130
	5-6(Control)		0,725
4	1-2	LSD	0,020*
	1-3		0,631
	1-4		0,163
	1-5		0,605
	2-3		0,059
	2-4		0,176
	2-5		0,028*
	3-4		0,395
	3-5		0,970
	4-5		0,278
	1-6(Control)		0,312
	2-6(Control)		0,084
	3-6(Control)		0,644
	4-6(Control)		0,631
	5-6(Control)		0,542
7	1-2	LSD	0,079
	1-3		0,422
	1-4		0,414
	1-5		0,764
	2-3		0,012*
	2-4		0,219
	2-5		0,022*
	3-4		0,085
	3-5		0,529
	4-5		0,174
	1-6(Control)		0,321
	2-6(Control)		0,291
	3-6(Control)		0,059
	4-6(Control)		0,828

	5-6(Control)		0,117
10	1-2	LSD	0,353
	1-3		0,292
	1-4		0,996
	1-5		1,000
	2-3		0,051
	2-4		0,282
	2-5		0,284
	3-4		0,226
	3-5		0,224
	4-5		0,995
	1-6(Control)		0,192
	2-6(Control)		0,020*
	3-6(Control)		0,927
	4-6(Control)		0,113
	5-6(Control)		0,111

*Οι τιμές με “ * ” δηλώνουν περιπτώσεις **στατιστικής διαφοροποίησης** μεταξύ των ομάδων σύγκρισης στις οποίες αντιστοιχούν.

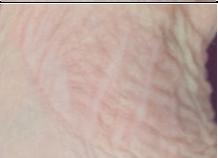
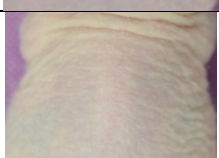
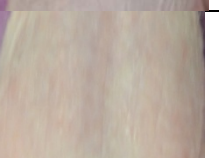
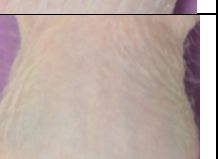
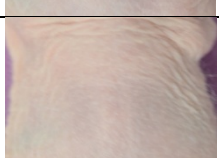
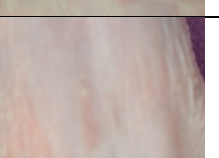
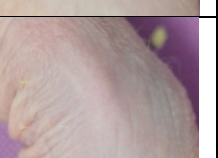
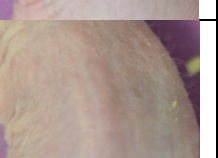
Από τα παραπάνω αποτελέσματα (**Διάγραμμα 17 & Πίνακες 82-86**) που αφορούν στην ερυθρότητα διαπιστώνεται ότι:

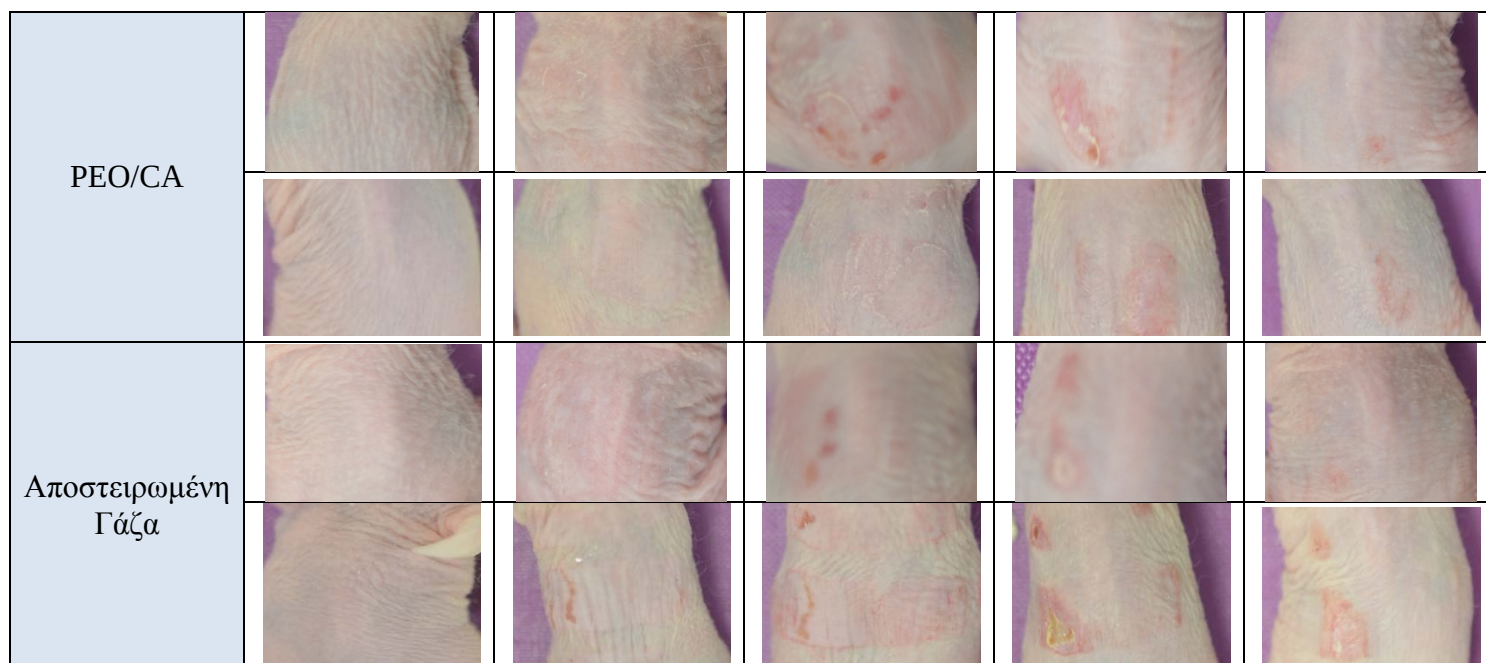
- Τη μεγαλύτερη μείωση της ερυθρότητας εμφάνισε η ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 8,2% w/w) κατά 19% και ακολούθησε η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) κατά 17% (**Πίνακας 83 & Διάγραμμα 17**).
- Στην ομάδα 1 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 15,1% w/w) η άνοδος της ερυθρότητας από τη 1η έως την 4η μέρα ($p=0,014$) και στη συνέχεια η πτώση της από την 4η στην 7η ($p=0,033$), στη 10η ($p=0,000$) και από την 1η στη 10η ($p=0,042$) είναι στατιστικά αξιόλογες (**Πίνακας 85 & Διάγραμμα 17**).
- Στην ομάδα 2 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 8,2% w/w) η πτώση της ερυθρότητας από τη μέρα 1 στη μέρα 7 ($p=0,044$) και στη συνέχεια στη μέρα 10 ($p=0,004$) ήταν ιδιαίτερα σημαντική (**Πίνακας 85 & Διάγραμμα 17**).
- Η ερυθρότητα στην ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 4,25% w/w), ακολούθησε σημαντική ανοδική πορεία μέχρι την 4η μέρα που ήταν η έξαρση της φλεγμονής ενώ η μείωση της μέχρι το τέλος των πειραμάτων δεν ήταν ιδιαίτερα αξιόλογη (**Πίνακας 85 & Διάγραμμα 17**).

- Στη 4η ομάδα (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA), η μείωση της έκτασης του ερυθρήματος μεταξύ των ημερών 1-7, ($p=0,022$) 1-10 ($p=0,002$) και 4-7 ($p=0,045$), 4-10 ($p=0,000$) ήταν στατιστικά υπολογίσιμη (Πίνακας 85 & Διάγραμμα 17).
- Η ερυθρότητα στο δέρμα των μυών της ομάδας 5 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) μειώθηκε σημαντικά από την 1η έως τη 10η ημέρα ($p=0,001$) και σταδιακά από την 4η και την 7η έως τη 10η ημέρα ($p=0,002$, $p=0,017$) (Πίνακας 85 & Διάγραμμα 17).
- Στατιστική σημαντικότητα στη μεταβολή του ερυθρήματος στην ομάδα των μαρτύρων φάνηκε μεταξύ των ημερών 4-7 ($p=0,004$) όπου η φλεγμονή ήταν έντονη (Πίνακας 85 & Διάγραμμα 17).
- Την 4η ημέρα μετά από την ακτινοβολήση (έξαρση φλεγμονής), το επίπεδο της ερυθρότητας της ομάδας 5 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) ήταν σημαντικά υψηλότερο από αυτό της ομάδας 2 (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 8,2% w/w ($p=0,028$)) (Πίνακας 86 & Διάγραμμα 17).
- Την 7η ημέρα η ερυθρότητα της 2ης ομάδας (ομάδα με επίθεμα *P. halepensis* 8,2% w/w) έχει μειωθεί στατιστικά σημαντικά σε σχέση με τις ομάδες 3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w) ($p=0,012$) και 5 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA) ($p=0,022$) (Πίνακας 86 & Διάγραμμα 17).
- Τέλος, τη 10η ημέρα (λήξη του πειράματος) η ομάδα των μαρτύρων εμφανίζει το υψηλότερο ποσοστό από όλες τις ομάδες (λόγω της απουσίας θεραπείας) ενώ η διαφορά της από το ποσοστό της 2ης ομάδας αποδείχτηκε στατιστικά σημαντικό ($p=0,020$) (Πίνακας 86 & Διάγραμμα 17).
- Αξίζει να σημειωθεί ότι τη 10η ημέρα, με τη λήξη των πειραμάτων, η ομάδα 3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w) ήταν αυτή που επέστρεψε πιο κοντά στα φυσιολογικά επίπεδα ερυθρότητας των μυών (Πίνακας 83,86 & Διάγραμμα 17).

11.7.5. Φωτοτεκμηρίωση

Οι φωτογραφίες που ελήφθησαν από τα ζώα της κάθε ομάδας, κατά τη διάρκεια και των δύο στην αρχή (ημέρα 1-φυσιολογικοί μύες, ημέρα 3-ακτινοβολημένοι μύες), στη μέση (ημέρα 4, 7) και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 10) παρατίθενται στην **Εικόνα 31**.

ΟΜΑΔΕΣ	ΗΜΕΡΕΣ					
	1 (Πριν τη UV)	3	4	7	10	
SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 15,1% w/w						
						
SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 8,2% w/w						
						
SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 4,25% w/w						
						
SA/PEO/CA						
						



Εικόνα 31. Ενδεικτικές φωτογραφίες κάθε ομάδας τις ημέρες 1, 3, 4, 7, και 10 και από τα δύο πειράματα.

Από τη μελέτη της κατάστασης του δέρματος (ερύθημα, οίδημα, ξηροδερμία) των αντίστοιχων πειραματόζωων (ενδεικτικές φωτογραφίες στην Εικόνα 31) συμπεραίνεται ότι:

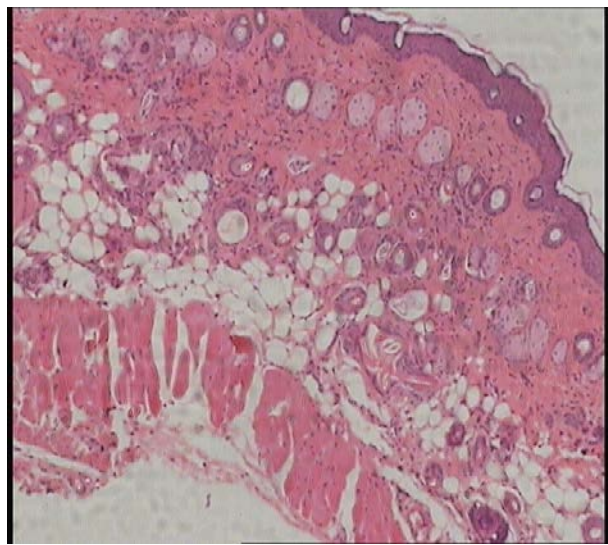
- Την ημέρα 3 μετά την ακτινοβολήση, έχουν αρχίσει να φαίνονται σταδιακά στοιχεία φλεγμονής, κυρίως ερύθημα σε όλες τις ομάδες.
- Την 4η ημέρα (έξαρση φλεγμονής) παρατηρείται εμφάνιση διάχυτης ερυθρότητας, και ξηροδερμίας (ξεφλούδισμα) σε όλες τις ομάδες ενώ οι ομάδες 5,6 εμφανίζουν πιο εμφανές οίδημα και ερύθημα από τις υπόλοιπες ομάδες (ομάδες 1,2,3,4). Καλύτερη κλινική εικόνα παρουσιάζουν οι ομάδες 1,2,3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, 8,2% w/w και ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 4,25% w/w), ακολουθεί η ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) ενώ η ομάδα 5 (ομάδα με επίθεμα με PEO/CA) και οι μάρτυρες (ομάδα Control) παρουσιάζουν τη χειρότερη εικόνα (οίδημα και έντονο ερύθημα).
- Την 7η ημέρα το οίδημα και το ερύθημα αρχίζει να υποχωρεί. Στις ομάδες με επίθεμα με θεραπευτικό παράγοντα (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, 8,2% w/w, 4,25% w/w και ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) έχει σχεδόν υποχωρήσει ενώ στις ομάδες 5,6 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA, ομάδα Control) η ένταση του ερυθθήματος και η ξηροδερμία έχουν αυξηθεί. Αυτές οι δύο ομάδες δείχνουν τη χειρότερη κλινική εικόνα..
- Τη 10η και τελευταία ημέρα, το δέρμα των μυών των ομάδων 1, 2, 3,4 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, 8,2% w/w, 4,25% w/w και ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) έχει

σχεδόν επανέλθει στη φυσιολογική του κατάσταση ενώ των υπόλοιπων ομάδων (ομάδα 5, μάρτυρες) συνεχίζει να φέρει σημάδια χρόνιας φλεγμονής και ξηροδερμίας.

- Συνολικά, την καλύτερη κλινική εικόνα επέδειξαν οι ομάδες 1,2,3 (ομάδα με επίθεμα με *P. halepensis* 15,1% w/w, 8,2% w/w και 4,25% w/w με μικρή διαφορά από την ομάδα 4 (ομάδα με επίθεμα με SA/PEO/CA) ενώ τη μικρότερη βελτίωση στο δέρμα κατά τη διάρκεια των πειραμάτων εμφάνισαν οι ομάδες 5 και 6 (ομάδα με επίθεμα PEO/CA, ομάδα Control).

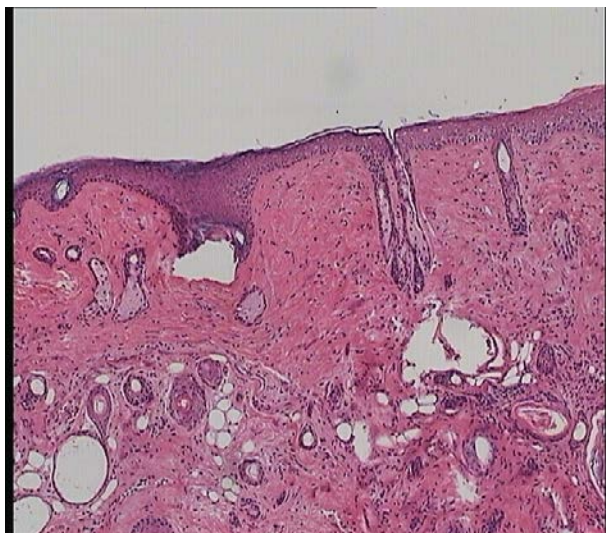
11.7.6. Αποτελέσματα ιστοπαθολογικής μελέτης

Τα δείγματα δέρματος που ελήφθησαν στο τέλος και των δύο πειραμάτων, στάλθηκαν για ιστοπαθολογική αξιολόγηση όπου παρατηρήθηκαν στο οπτικό μικροσκόπιο από εξειδικευμένο παθολογοανατόμο. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν και βγήκαν συμπεράσματα για τη φλεγμονή, την υπερκεράτωση και τον ερεθισμό. Ακολουθούν ενδεικτικές φωτογραφίες δέρματος από κάθε ομάδα και από τα δύο πειράματα συνολικά:



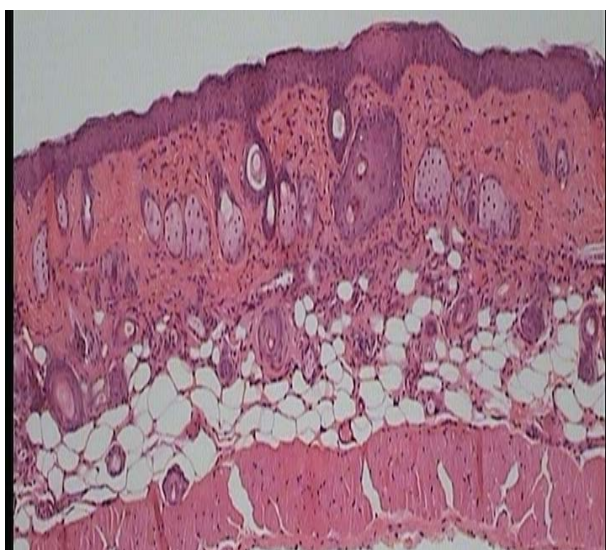
Εικόνα 32. Τομή δέρματος μυός ομάδας 1 (με επίθεμα SA/PEO/CA/*P. halepensis* 15,1% w/w).

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P. halepensis* 15,1% w/w παρουσιάζει εικόνα με πολύ αραιή και ελαφριά φλεγμονή στο εν τω βάθει χόριο (αραιά λεμφοκύτταρα) και καλή επιδερμίδα με μικρή υπερκεράτωση (**Εικόνα 32**).



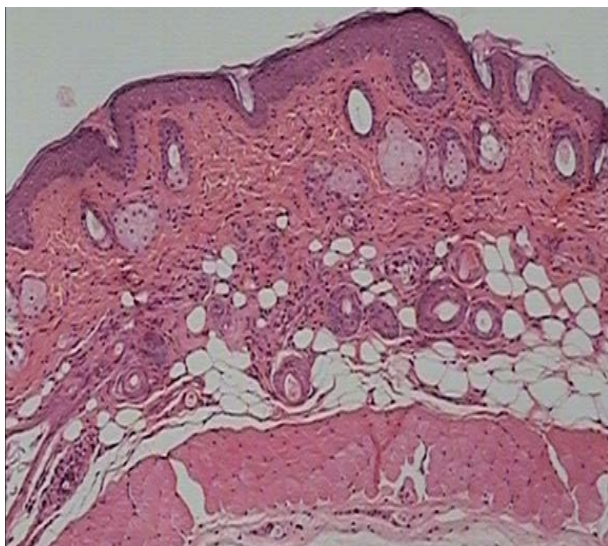
Εικόνα 33. Τομή δέρματος μυός ομάδας 2 (με επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halensis* 8,2% w/w).

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halensis* 8,2% w/w παρουσιάζει εικόνα με αραιή φλεγμονή στο υποδόριο (αραιά λεμφοκύτταρα) και φυσιολογική επιδερμίδα (**Εικόνα 33**).



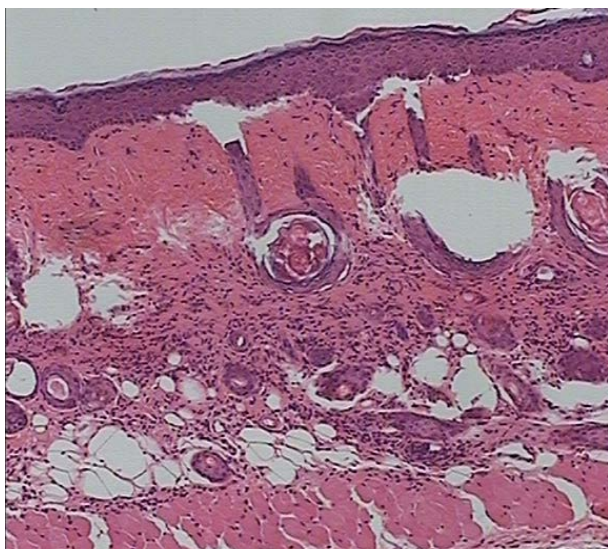
Εικόνα 34. Τομή δέρματος μυός ομάδας 3 (με επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halensis* 4,25% w/w).

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halensis* 4,25% w/w παρουσιάζει εικόνα χρόνιας φλεγμονής μεταξύ χορίου-υποδορίου, πιο έντονη και πιο πυκνή από της εικόνας 19. Η ιστοπαθολογική εικόνα αυτής της ομάδας είναι χειρότερη από της ομάδας με το επίθεμα SA/PEO/CA/P. *halensis* 15,1% w/w. Και σε αυτή την ομάδα η εικόνα της επιδερμίδας είναι καλή με μικρή υπερκεράτωση (**Εικόνα 34**).



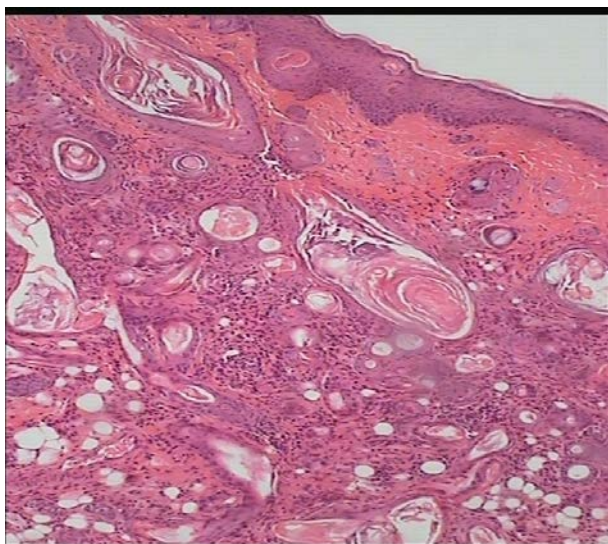
Εικόνα 35. Τομή δέρματος μνός ομάδας 3 (με επίθεμα SA/PEO/CA).

Η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA παρουσιάζει εικόνα με ήπια (αραιή) χρόνια φλεγμονή (αραιές λεμφοκυτταρικές διηθήσεις) μεταξύ χορίου-υποδορίου, πιο εντοπισμένη σε σχέση με την εικόνα των προηγούμενων ομάδων. Και εδώ η επιδερμίδα είναι καλή με ελαφριά υπερκεράτωση (**Εικόνα 35**).



Εικόνα 36. Τομή δέρματος μνός ομάδας 4 (με επίθεμα PEO/CA).

Η ομάδα με το επίθεμα PEO/CA δείχνει μέτρια (προς πυκνή) χρόνια λεμφοκυτταρική φλεγμονώδη διήθηση μεταξύ χορίου – υποδορίου και φυσιολογική επιδερμίδα με μικρή υπερκεράτωση. (**Εικόνα 36**). Η εικόνα αυτή είναι χειρότερη από την εικόνα της ομάδας 3 (**Εικόνα 35**).



Εικόνα 37. Τομή δέρματος μυός ομάδας 5, Control (με αποστειρωμένη γάζα).

Η ομάδα των μαρτύρων παρουσιάζει εικόνα με έντονη, χρόνια φλεγμονή (έντονη φλεγμονώδης λεμφοκυτταρική διήθηση) και στο χόριο και στο υποδόριο και φυσιολογική επιδερμίδα με ελαφριά υπερκεράτωση (**Εικόνα 37**). Η ομάδα αυτή έδειξε τη χειρότερη εικόνα από όλες τις ομάδες.

- ❖ Συμπερασματικά, την καλύτερη εικόνα δέρματος επέδειξε απ' όλες τις ομάδες η ομάδα 1 με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P. halepensis* 15,1% w/w ενώ τη χειρότερη η ομάδα 6 (μάρτυρες).

	Επίθεμα SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 15,1% w/w	Επίθεμα SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 8,2% w/w	Επίθεμα SA/PEO/CA/ <i>P.halepensis</i> 4,25% w/w	Επίθεμα SA/PEO/CA	Επίθεμα PEO/CA	Αποστειρωμ ένη Γάζα (Μάρτυρες)
Πείραμα Α'						
Πείραμα Β'						

Εικόνα 38. Σύγκριση τομών δέρματος μυών και των δύο πειραμάτων.

- Τελικό συμπέρασμα ιστοπαθολόγου:

Ομάδα 1 > Ομάδα 2 $\geq$ Ομάδα 3 ~ Ομάδα 4 > Ομάδα 5 > Ομάδα 6

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η *in vivo* αντιφλεγμονώδης δράση μιας σειράς ηλεκτροϊονοποιημένων πολυμερικών επιθεμάτων οξικής κυτταρίνης (CA) και πολυαιθυλενοξειδίου (PEO), με ενσωματωμένους δραστικούς παράγοντες το υδατικό εκχύλισμα της Χαλέπειου πεύκης (*Pinus halepensis*) σε διάφορες συγκεντρώσεις και το αλγινικό νάτριο (SA). Ακόμη, αξιολογήθηκε η επίδραση των επιθεμάτων στις ιδιότητες του δέρματος, μέσω της εκτίμησης συγκεκριμένων παραμέτρων.

Στο πρώτο πείραμα παρατηρήθηκε ότι η ομάδα των μυών με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 8,2% w/w εμφάνισε καλύτερη αντιφλεγμονώδη δράση σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες, σύμφωνα με την ιστοπαθολογική διάγνωση, ενώ η ομάδα των μαρτύρων που δεν έλαβε κάποια θεραπεία εκδήλωσε τη μεγαλύτερη επιδείνωση μετά την ακτινοβολήση, ακολουθούμενη από την ομάδα με το επίθεμα PEO/CA. Συγκεκριμένα, η κατάταξη των επιθεμάτων με σειρά ελαττούμενης δράσης, όπως προέκυψε από την ιστοπαθολογική εξέταση, είναι: Επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 8,2% w/w > Επίθεμα SA/PEO/CA > Επίθεμα PEO/CA > Αποστειρωμένη Γάζα (Μάρτυρες).

Ακόμη, ως προς την εκτίμηση των παραμέτρων του δέρματος, βρέθηκε ότι η ομάδα των μαρτύρων παρουσίασε μέσα σε δέκα ημέρες σημαντική αύξηση της TEWL, της ερυθρότητας και του πάχους του δέρματος, λόγω της ξηροδερμίας και της υπερκεράτωσης της επιδερμίδας, ενώ αντίθετα η ποσότητα του σμήγματος σχεδόν μηδενίστηκε, γεγονότα που επιβεβαιώθηκαν και από την κλινική εικόνα (φωτοτεκμηρίωση). Σε αντίθεση με την ομάδα των μαρτύρων, η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 8,2% w/w εμφάνισε παράλληλα τα υψηλότερα επίπεδα ενυδάτωσης και ελαστικότητας δέρματος και τα χαμηλότερα επίπεδα TEWL και ερυθρότητας, αποτελέσματα που κατέστησαν τη συγκεκριμένη θεραπεία αποτελεσματικότερη σε σύγκριση με αυτές των υπόλοιπων ομάδων.

Στο δεύτερο πείραμα παρατηρήθηκε ότι η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w εμφάνισε καλύτερη αντιφλεγμονώδη δράση σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες, ακολουθούμενη από την ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 4,25% w/w, η οποία έδειξε παραπλήσια αντιφλεγμονώδη δράση με την ομάδα που έφερε το επίθεμα SA/PEO/CA, σύμφωνα πάντα και με την ιστοπαθολογική εξέταση. Η ομάδα των μαρτύρων που δεν έλαβε κάποια θεραπεία εκδήλωσε τη μεγαλύτερη επιδείνωση μετά την ακτινοβολήση, ακολουθούμενη από την ομάδα με το επίθεμα PEO/CA. Σε αυτό το πείραμα, η κατάταξη των επιθεμάτων με σειρά ελαττούμενης δράσης, όπως προέκυψε από την ιστοπαθολογική εξέταση είναι: Επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w > Επίθεμα

SA/PEO/CA/*P.halepensis* 4,25% w/w > Επίθεμα SA/PEO/CA > Επίθεμα PEO/CA > Αποστειρωμένη Γάζα (Μάρτυρες).

Ακόμη, ως προς την εκτίμηση των παραμέτρων του δέρματος βρέθηκε ότι η ομάδα των μαρτύρων παρουσίασε μέσα σε δέκα ημέρες σημαντική αύξηση της TEWL, της ερυθρότητας και του πάχους του δέρματος, λόγω της ξηροδερμίας και της υπερκεράτωσης της επιδερμίδας, ενώ αντίθετα η ενυδάτωση και το σμήγμα μειώθηκαν αισθητά, γεγονότα που επιβεβαιώθηκαν και από την κλινική εικόνα (φωτοτεκμηρίωση). Αντίθετα, η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w εμφάνισε μειωμένη ερυθρότητα και πάχος και παράλληλα υψηλά επίπεδα ενυδάτωσης, TEWL και σμήγματος. Ακόμη, η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 4,25% w/w παρουσίασε αυξημένη ελαστικότητα, ερυθρότητα και σμήγμα, καθώς επίσης και χαμηλά επίπεδα TEWL. Και σε αυτό το πείραμα, τα συνολικά αποτελέσματα υπέδειξαν το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w ως την καταλληλότερη θεραπεία ενάντια στη φλεγμονή από ηλιακή ακτινοβολία, σε σύγκριση με αυτές των υπόλοιπων ομάδων, ενώ ακολούθησε η θεραπεία με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 4,25%, w/w, καθώς και αυτή με το επίθεμα SA/PEO/CA.

Στην τελική σύγκριση των θεραπειών των δύο πειραμάτων, επιβεβαιώθηκε ότι η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w εμφάνισε σημαντικά αποτελεσματικότερη δράση ενάντια στη φλεγμονή από ηλιακή ακτινοβολία, σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες, ενώ ακολούθησαν οι ομάδες με τα μειούμενα ποσοστά *P. halepensis* 8,2% w/w και 4,25% w/w. Η τελική κατάταξη με σειρά ελαττούμενης δράσης των επιθεμάτων με γνώμονα την ιστοπαθολογική εξέταση είναι: Επίθεμα με SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w > Επίθεμα με SA/PEO/CA/*P.halepensis* 8,2% w/w > Επίθεμα με SA/PEO/CA/*P.halepensis* 4,25% w/w > Επίθεμα με SA/PEO/CA > Επίθεμα με PEO/CA > Αποστειρωμένη Γάζα (Μάρτυρες).

Ακόμη, ως προς την εκτίμηση των παραμέτρων του δέρματος διαπιστώθηκε ότι η ομάδα των μαρτύρων έδειξε συνολικά μέσα σε δέκα ημέρες σημαντική αύξηση της TEWL, λόγω της βλάβης (και της ξηροδερμίας) από τη φλεγμονή, ενώ αντίθετα η ενυδάτωση και το σμήγμα βρέθηκαν σημαντικά μειωμένα. Τα αποτελέσματα αυτά τεκμηριώθηκαν και από την κλινική εικόνα (φωτοτεκμηρίωση). Σε αντιδιαστολή, η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w παρουσίασε το μεγαλύτερο ποσοστό σμήγματος και μειωμένη ερυθρότητα, η ομάδα με το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 8,2% w/w εμφάνισε χαμηλή ερυθρότητα και TEWL, ενώ η ομάδα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 4,25% w/w έδειξε αυξημένα επίπεδα ενυδάτωσης και σμήγματος, καθώς και χαμηλά επίπεδα TEWL.

Από τις παραπάνω παρατηρήσεις, προέκυψαν τα εξής καίρια σημεία συζήτησης:

- **Τοξικότητα σκευασμάτων**

Κατά το τέλος του δεύτερου πειράματος και με την πάροδο της έξαρσης της φλεγμονής, παρατηρήθηκε ιδιαίτερη ξηροδερμία και έντονο ερύθημα στο δέρμα των μυών με το επίθεμα PEO/CA, τα οποία σε κάποιες περιπτώσεις ήταν αρκετά εντονότερα από αυτά στο δέρμα των μαρτύρων. Αρχικά υποθέσαμε ότι κάποιο από τα δύο υλικά του συγκεκριμένου επιθέματος (όπως για παράδειγμα η οξική κυτταρίνη) [182] ή ο συνδυασμός τους, να προκάλεσε κάποια τοξικότητα στο δέρμα και να επιδείνωσε τα συμπτώματα της φλεγμονής. Τα αποτελέσματα όμως της ιστοπαθολογικής μελέτης δεν επιβεβαίωσαν αυτή την υπόθεση και η επιδείνωση της κατάστασης της επιδερμίδας της συγκεκριμένης ομάδας αποδόθηκε στη μικρότερη ηλικία των ζώων και στο ζωηρό τους χαρακτήρα, ο οποίος αποδεδειγμένα δυσχεραίνει τη διαδικασία της ίασης. Ωστόσο, περαιτέρω διερεύνηση του φαινομένου αυτού μπορεί ίσως να δώσει ενδιαφέρουσες πληροφορίες.

- **Ιδιότητα διατήρησης ενυδάτωσης/ υγρού περιβάλλοντος**

Μια από τις σημαντικότερες ιδιότητες του αλγινικού νατρίου είναι η διατήρηση φυσιολογικού περιβάλλοντος υγρασίας στη θέση του τραύματος όπου εφαρμόζεται, κυρίως σε εξιδρωματικές πληγές, αποτρέποντας σημαντικά την αφυδάτωση τους [183]. Η ιδιότητά του αυτή επιβεβαιώθηκε στην παρούσα πειραματική μελέτη, κατά την οποία η ενυδάτωση στο δέρμα των μυών όπου εφαρμόστηκε, διατηρήθηκε σε φυσιολογικά επίπεδα.

- **Αντιφλεγμονώδης δράση**

Η διαπιστωμένη αντιφλεγμονώδης δράση του αλγινικού νατρίου [184] επιβεβαιώθηκε και στη μελέτη μας και σε συνδυασμό με τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της Χαλέπειου πεύκης (*P. halepensis*) [140] οδήγησαν στην παρασκευή ενισχυμένων επιθέματος με αξιολογημένη δράση, που περιόρισαν σημαντικά τόσο τα συμπτώματα (παρατηρήθηκε αίσθημα ανακούφισης και δροσιάς) όσο και την έκταση της φλεγμονώδους αντίδρασης στο δέρμα.

- **Θεραπεία σε μορφή επιθέματος**

Σε ορισμένες περιπτώσεις, η εφαρμογή των επιθεμάτων και η κλειστή μέθοδος θεραπείας του εγκαύματος που εφαρμόστηκε, έδειξε να είναι λίγο ενοχλητική για τα ζώα, αφού παρατηρήθηκε κνησμός, προσπάθεια αφαίρεσής τους και μικρός ερεθισμός στην περιοχή προσκόλλησης. Παρόλα αυτά, με τη χρήση βελτιωμένου τρόπου περίδεσης, παρατηρήθηκαν ηπιότερες αντιδράσεις και μεγαλύτερη συμμόρφωση από την πλευρά των ζώων, σε σύγκριση με προκαταρκτικά πειράματα όπου είχαν προηγηθεί.

Ακόμη, με τη χρήση των επιθεμάτων, η θεραπεία μπόρεσε να ελεγχθεί επί 24/ώρου βάσεως (σε αντίθεση με άλλα σκευάσματα τοπικής αντιφλεγμονώδους θεραπείας, όπως κρέμες και γέλες), κάτι το οποίο αποτελούσε και τον αρχικό σκοπό της μελέτης. Συνεπώς, η εφαρμογή της κλειστής θεραπείας έδειξε υπεροχή έναντι αυτής της ανοιχτής, γεγονός που έχει επιβεβαιωθεί και από άλλες μελέτες [185, 186, 187].

Τέλος, ιδιαίτερα σημαντικό ήταν το γεγονός ότι τα επιθέματα έδειξαν φιλική συμπεριφορά προς το δέρμα, καθώς και ότι οι ιδιότητές του δέρματος διατηρήθηκαν σε φυσιολογικά επίπεδα. Τυχόν φαινόμενα σημαντικής άδηλης απώλειας, υπερενυδάτωσης και έντονης ξηροδερμίας, που σημειώθηκαν, οφείλονταν κατά κύριο λόγο στη βλάβη του επιδερμικού φραγμού, στη λύση της συνέχειας του δέρματος και σε υποδερμικά οιδήματα, που ήταν αποτελέσματα της φλεγμονής από την ακτινοβολία.

- **Επιλογή των καλύτερων σκευασμάτων**

Λαμβάνοντας υπόψη και κάποια μεταβλητότητα στις μετρήσεις των παραμέτρων του δέρματος, το πρώτο κριτήριο στην επιλογή του καταλληλότερου επιθέματος ήταν η ισχύς της αντιφλεγμονώδους δράσης που εμφάνισαν, διαπιστωμένη βάσει της ιστοπαθολογικής αξιολόγησης και της κλινικής εικόνας. Τα καλύτερα αποτελέσματα εμφάνισαν οι ομάδες με τα επιθέματα (1) SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w, (2) SA/PEO/CA/*P.halepensis* 8,2% w/w, (3) SA/PEO/CA/*P.halepensis* 4,25% w/w (σχεδόν στην ίδια θέση με το SA/PEO/CA).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνοψίζοντας, τα συμπεράσματα που προέκυψαν τελικά από την παρούσα μελέτη είναι τα εξής:

- ✓ Η αύξηση της δόσης του δραστικού εκχυλίσματος *P. halepensis* στο επίθεμα επηρέασε θετικά την έκταση, την πυκνότητα και το βάθος της φλεγμονής στις στιβάδες του δέρματος, βάσει της ιστοπαθολογικής αξιολόγησης.
- ✓ Το επίθεμα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 15,1% w/w συνδύασε την καλύτερη αντιφλεγμονώδη δράση με υψηλή ευεργετική επίδραση στις ιδιότητες του δέρματος.
- ✓ Πιο περιορισμένη δράση στη φλεγμονή, αλλά σαφώς αξιόλογη έδειξαν τα επιθέματα SA/PEO/CA/*P.halepensis* 8,2% w/w, SA/PEO/CA/*P.halepensis* 4,25% w/w και SA/PEO/CA με αρκετά καλά αποτελέσματα στις ιδιότητες του δέρματος.
- ✓ Ο συνδυασμός των θεραπευτικών παραγόντων SA/*P. halepensis* απέτρεψε τη δημιουργία εν τω βάθει λεμφοκυτταρικών φλεγμονωδών διηθήσεων, οι οποίες αντιμετωπίζονται ιδιαίτερα δύσκολα .
- ✓ Το επίθεμα PEO/CA είχε παραπλήσιο αποτέλεσμα με αυτό της απλής γάζας (αυτοϊαση), τόσο στην αντιμετώπιση της φλεγμονώδους απόκρισης, όσο και στις ιδιότητες του δέρματος των μυών.
- ✓ Η θεραπεία σε μορφή επιθέματος ξεπέρασε τις αρχικές επιθυμητές προσδοκίες, τόσο στην αποδοχή του ως φαρμακοτεχνολογική μορφή, όσο και στην επίδρασή του στη διατήρηση των ιδιοτήτων του δέρματος.

Βασιζόμενοι στα θετικά και ιδιαίτερα ελπιδοφόρα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, κρίνουμε ενδιαφέρουσα και αναγκαία την περαιτέρω διερεύνηση της δόσης του δραστικού εκχυλίσματος *P. halepensis*, καθώς και του συνδυασμού των υλικών των πολυμερικών επιθεμάτων. Η εξέλιξη της μελέτης και της συνεπαγόμενης χρήσης επιθεμάτων, ως θεραπευτική μέθοδο, θα μπορούσε να προσφέρει μια εναλλακτική αγωγή για την αντιμετώπιση της φλεγμονής του δέρματος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Παπαϊωάννου, Γ. (2006). *Κοσμητολογία : Συστατικά - Παρασκευή - Χρήση Καλλυντικών*. 4th ed. Αθήνα: Γκέλμπεσης Γ.
- [2] Αντωνίου, Χ., Κατσαμπάς, Α., (2014). *Δερματολογία-Αφροδισιολογία*. Αθήνα: Πασχαλίδης.
- [3] Seeley, R.R., Trend, D., Stephens, T.D., Tate, P. (2008). *Anatomy and Physiology* . 8th ed. New-York: McGraw-Hill Higher Education.
- [4] Young, B., Lowe, S.J., Health, W.J., Deakin Alan Stevens, J.P (2000). *Wheater's Functional Histology* . 4th ed. London: Churchill Livingstone. p162.
- [5] Fernandes, J.M., Kemp, G.D., Molle, M.G., Smith, V.J. (2002). *Anti-microbial properties of histone H2A from skin secretions of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss*. *Biochem J.* 368 (2), p611-620.
- [6] Peate, I. (2005). Anatomy and physiology of the skin. In: Peate, I., Martini *Compendium of Clinical Skills for Student Nurses*. London and Philadelphia : Whurr Publisher. p162-164.
- [7] Greene, J.R., Harris, D.N. (2008). *Pathology and Therapeutics for Pharmacists*. 3rd ed. United-Kingdom: Pharmaceutical Press.
- [8] Κατσάμπας, Α. (2001). *Μαθήματα δερματολογίας και αφροδισιολογίας*. Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης.
- [9] Lowe, S.J., Anderson, G.P. (2014). *Human Histology*. 4th ed. United-States: Mosby.
- [10] Gawkrödger, J.D. (2002). *Dermatology: An Illustrated Colour Text*. 3rd ed. United-Kingdom: Churchill Livingstone.
- [11] Burns, T., Breathnach, S., Cox, N., Griffiths, C. (2013). *Rook's Textbook of Dermatology*. 8th ed. New-York: Wiley-Blackwell.
- [12] Mescher, L.A. (2016). *Junqueira's Basic Histology*. 14th ed. New-York: McGraw-Hill Education.
- [13] Starkco, R.S., Pinkush, H. Quantitative and qualitative data on the pigment cell of adult human epidermis. *J Invest Dermatol.* 1957, p28:33–45.
- [14] Burns, T., Breathnach, S., Cox, N., Griffiths, C. (2013). *Rook's Textbook of Dermatology*. 8th ed. New-York: Wiley-Blackwell.
- [15] James, D.W., Berger, G.T., Elston, M.D. (2005). *Andrews' Diseases of the Skin: Clinical Dermatology* (10th ed.). Saunders. Pages 1, p11–12.
- [16] Walters, K.A., Roberts, M.S. (2002). *The structure and function of skin*. In: Walters KA (ed) *Dermatological and transdermal formulations*. New York, Marcel Dekker, Inc, p1–39.
- [17] Steves A., Lowe J. (1997). *Ιστολογία*. Αθήνα, Εκδόσεις: Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης.

- [18] Proksch, E., Brandner, J.M., Jensen, J.M. (2008). "The skin: an indispensable barrier". *Exp Dermatol.* 17 (12), p1063–72.
- [19] Madison, K.C. (2003). "Barrier function of the skin: "la raison d'être" of the epidermis" (PDF). *J Invest Dermatol.* 121 (2), p231–4.
- [20] Zhai, H., Maibach, H.I., (2002). *Occlusion vs. skin barrier function.* *Skin ResTechnol.* 8, p1–6.
- [21] Lee, H.S., Lee, D.H., Cho, S., Chung, J.H. (2006) *Minimal heating dose: a novel biological unit to measure infrared irradiation.* *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 22, p148–152.
- [22] Darlenski, R.,Kazandjieva, J.,Tsankov, N. (2011). SKIN BARRIER FUNCTION: MORPHOLOGICAL BASIS AND REGULATORY MECHANISMS . *JCM.* 4 (1), p36-45.
- [23] Rogiers, V. (2001) *EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences.* *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 14(2), p117-28.
- [24] Gregor B. E., Jemec, B.E.G., Serup, J., Grove, L.G. (2006). *Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin.* 2nd ed. United-Kingdom: Taylor & Francis.
- [25] Kottner, J., Lichterfeld, A., Blume-Peytavi, U. (2013). Maintaining skin integrity in the aged: a systematic review *British Journal of Dermatology* 169(3).
- [26] Darlenski, R., Sassning, S., Tsankov, N., Fluhr, J.W. (2009). Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier. *Eur J Pharm Bio-pharm.* 72, p295–303.
- [27] Lane, E.M., Hadgraft, J., Oliveira, G., Vieira, R., Mohammed, D., Hirata, K.. (2012). Rational formulation design. *International Journal of Cosmetic Science.* 34, p496–501.
- [28] Βαρβαρέσου, Α. (2011). *Ειδική Κοσμητολογία.* Αθήνα, Εκδόσεις: Κανκάς.
- [29] Imhof, E.R., De Jesus, P.E.M., Xiao, P., Ciorrea, I.L., Berg, P.E. (2009). Closed-chamber transepidermal water loss measurement: microclimate, calibration and performance. *International Journal of Cosmetic Science.* 31, p97-118.
- [30] Du Plessis, J., Stefaniak, A., Eloff, F., John, S., Agner, T., Chou, T., Nixon, R., Steiner, M., Franken, A., Kudla, I., Holness, L. (2013). International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration. *Skin Res Technol.* 19 (3), p265–278.
- [31] Martini, F.H., Nath J.L., Bartholomew E.F. (1998). *Fundamentals of Anatomy & Physiology*, 4th edition.
- [32] Everett, J.S., Sommers, M.S. (2013). Skin viscoelasticity: physiologic mechanisms, measurement issues, and application to nursing science. *Biol Res Nurs.* 15(3), p338-346.
- [33] Clancy, N.T., Nilsson, G.E., Anderson, C.D., & Leahy, M.J. (2010). A new device for assessing changes in skin viscoelasticity using indentation and optical measurement. *Skin Research and Technology* 16, p210–228.

- [34] Seehra, G.P., Silver, F.H. Viscoelastic properties of acid-and alkaline-treated human dermis: A correlation between total surface charge and elastic modulus. *Skin Research and Technology*. 2006;12, p190–198.
- [35] Γραμματικοπουλος, Γ. (2004). *Φωτογήρανση – Φωτοπροστασία*. Θεσσαλονίκη: ΤΕΙΘ.
- [36] Diffey, B. and Kochevar, I. (2007). Basic principles of photobiology. In: H. Lim, H. Honigsmann and J. Hawk, ed., *Photodermatology*, 1st ed.
- [37] Clydesdale GJ, Dandie GW, Muller HK. (2001) Ultraviolet light induced injury: Immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol* 79, p547–68.
- [38] Svobodova, A., Walterova, D. and Vostalova, J. (2006). Ultraviolet light induced alteration to the skin. *Biomedical Papers*, 150(1), p25-38.
- [39] Kripke, L.M. (1991). Immunological Effects of Ultraviolet Radiation. *The Journal of Dermatology*. 18 (8), p429-433.
- [40] Ichihashi M, Ueda M, Budiyo A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T (2003) UV-induced skin damage. *Toxicology* 189, p21–39.
- [41] Hruza, L.L., Mallory, B.S., Fitzgibbons, J., Mallory, B.G. (1993). Linear IgA Bullous Dermatitis in a Neonate. *Pediatric Dermatology*. 10 (2), p171-176.
- [42] D’Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., Scott, T. (2013). UV Radiation and the Skin . *International Journal of Molecular Sciences* . 14 (6), p12222-12248.
- [43] Κατσάμπας Α. (2007). *Ανατομία Και Φυσιολογία Του Δέρματος*. panacea.med.uoa.gr. 15-01-2007. <http://panacea.med.uoa.gr/topic.aspx?id=737>
- [44] Armstrong, B.K. (1994). Stratospheric ozone and health. *International journal of epidemiology* 23(5), p873-885.
- [45] Schmidt, É.C., Dos Santos, R., Horta, P.A., Maraschin, M., Bouzon, Z.L. (2010). Effects of UVB radiation on the agarophyte *Gracilaria domingensis* (Rhodophyta, Gracilariales): changes in cell organization, growth and photosynthetic performance. *Micron* 41(8), p919-930.
- [46] Kabat-Zinn, J., Wheeler, E., Light, T., Skillings, A., Scharf, M.J., Cropley, T.G., Bernhard, J.D. (1998). Influence of a mindfulness meditation-based stress reduction intervention on rates of skin clearing in patients with moderate to severe psoriasis undergoing photo therapy (UVB) and photochemotherapy (PUVA). *Psychosomatic medicine* 60(5), p625-632.
- [47] Zonios, G., Bykowski, J., Kollias, N. (2001). Skin melanin, hemoglobin, and light scattering properties can be quantitatively assessed in vivo using diffuse reflectance spectroscopy. *Journal of Investigative Dermatology* 117(6), p1452-1457
- [48] Falk, E.S. (1985). UV-light therapies in atopic dermatitis. *Photo-dermatology* 2(4), p241-246.

- [49] Holick, M.F., Binkley, N.C., Bischoff-Ferrari, H.A., Gordon, C.M., Hanley, D.A., Heaney, R.P., Weaver, C.M. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 96(7), p1911-1930.
- [50] Ginde, A.A., Mansbach, J.M., Camargo, C.A. (2009). Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Archives of internal medicine* 169(4), p384-390.
- [51] Grounds, M.D. (2002). Reasons for the degeneration of ageing skeletal muscle: a central role for IGF-1 signalling. *Biogerontology* 3(1), p19-24.
- [52] Park, B.S., Lee, D.Y., Youn, J.I., Park, J.S., Kim, I.G. (1999). Vitamin D receptor polymorphism is associated with psoriasis. *Journal of investigative dermatology* 112(1), p113-116.
- [53] Hyppönen, E., Läärä, E., Reunanen, A., Järvelin, M.R., Virtanen, S.M. (2001). Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *The Lancet* 358(9292), p1500-1503.
- [54] Brehm, J.M., Celedón, J.C., Soto-Quiros, M.E., Avila, L., Hunninghake, G.M., Forno, E., Litonjua, A.A. (2009). Serum vitamin D levels and markers of severity of 196 childhood asthma in Costa Rica. *American journal of respiratory and critical care medicine* 179(9), p765-771.
- [55] Miley, D.D., Garcia, M.N., Hildebolt, C.F., Shannon, W.D., Couture, R.A., Anderson, Spearie, C.L., Civitelli, R. (2009). Cross-sectional study of vitamin D and calcium supplementation effects on chronic periodontitis. *Journal of periodontology* 80(9), p1433-1439.
- [56] Wang, T.J., Pencina, M.J., Boot, S.L., Jacques, P.F., Ingelsson, E., Lanier, K., Vasan, R.S. (2008). Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 117(4), p503-511.
- [57] Anglin, R.E., Samaan, Z., Walter, S.D., McDonald, S.D. (2013). Vitamin D deficiency and depression in adults: systematic review and meta-analysis. *The British journal of psychiatry* 202(2), p100-107.
- [58] Garland, C.F., Gorham, E.D., Mohr, S.B., Grant, W.B., Giovannucci, E.L., Lipkin, M., Garland, F.C. (2007). Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 103(3), p708-711.
- [59] Παρμπούνη-Κωνσταντάκου, Ε. (2007). *Ακτινοθεραπεία*. Αθήνα, Εκδόσεις: Βήτα.
- [60] Adamskaya, N., Dungal, P., Mittermayr, R., Hartinger, J., Feichtinger, G., Wassermann, K., Van Griensven, M. (2011). Light therapy by blue LED improves wound healing in an excision model in rats. *Injury* 42(9), p917-921.

- [61] Dai, T., Gupta, A., Murray, C.K., Vrahas, M.S., Tegos, G.P., & Hamblin, M. R. (2012). Blue light for infectious diseases: *Propionibacterium acnes*, *Helicobacter pylori*, and beyond?. *Drug Resistance Updates* 15(4), p223-236.
- [62] Dai, T., Kharkwal, G.B., Zhao, J., St Denis, T.G., Wu, Q., Xia, Y., Huang, L., Sharma, S.K., d'Enfert, C., Hamblin, M.R., (2011). Ultraviolet-C light for treatment of *Candida albicans* burn infection in mice. *Photochemistry and Photobiology* 87, p342–349.
- [63] Dungal, P., Hartinger, J., Chaudary, S., Slezak, P., Hofmann, A., Hausner, T., Mittermayr, R. (2014). Low level light therapy by LED of different wavelength induces angiogenesis and improves ischemic wound healing. *Lasers in surgery and medicine* 46(10), p773-780.
- [64] Duracková, Z. (2010). Some Current Insights into Oxidative Stress .*Physiol. Res.*. 59 (4), p459-469.
- [65] Palmer, D.M., Kitchin, J.S. (2010). Oxidative damage, skin aging, antioxidants and a novel antioxidant rating system.. *J Drugs Dermatol.*. 9 (1), p11-15.
- [66] Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullos M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants.. *Ecotoxicol Environ Saf.*. 64 (2), p178-189.
- [67] Cadet, J., Douki, T., Pouget, J.P., Ravanat, J.L., Sauvaigo, S.(2001). Effects of UV and Visible Radiations on Cellular DNA. *Curr. Probl. Dermatol.*29, p62-73.
- [68] Trautinger, F. (2001). Mechanisms of photodamage of the skin and its functional consequences for skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology*, 26(7), p573-577.
- [69]] Svobodova, A., Walterova, D. and Vostalova, J. (2006). Ultraviolet light induced alteration to the skin. *Biomedical Papers*, 150(1), p25-38.
- [70] Pinnell, S. (2003). Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48(1), p1-22.
- [71] Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), p428-435.
- [72] Biswas, S. (2016). Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox?. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, p1-9.
- [73] Huang, M., Ghai, G. and Ho, C. (2004). Inflammatory Process and Molecular Targets for Antiinflammatory Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3(4), p127-139.
- [74] Zhan, J., Wang, X., Liu, Y., Zhang, Z., Wang, L., Chen, J., Huang, S., Zeng, H., Lai, X. (2016). Andrographolide Sodium Bisulfate Prevents UV-Induced Skin Photoaging through Inhibiting Oxidative Stress and Inflammation. *Mediators of Inflammation*, 2016, p1-12.

- [75] Fraticelli, A., Serrano, C., Bochner, B., Capogrossi, M. and Zweier, J. (1996). Hydrogen peroxide and superoxide modulate leukocyte adhesion molecule expression and leukocyte endothelial adhesion. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1310(3), p251-259.
- [76] Scholz, H., Yndestad, A. and Damas, J. (2003). 8-Isoprostane increases expression of interleukin-8 in human macrophages through activation of mitogen-activated protein kinases. *Cardiovascular Research*, 59(4), p945-954.
- [77] Fuller, B. (2015). Antioxidants and Anti-inflammatories. In: Z. Draelos, ed., *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*, 1st ed. John Wiley & Sons.
- [78] Γιαννακοπούλου, Ε. (2009). Οξειδωτικό stress – αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί: Κλινική σημασία. *ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ*. 26 (1), p23-35.
- [79] Kohen, R., Gati, I. (2000). Skin low molecular weight antioxidants and their role in aging and in oxidative stress. *Toxicology*, 148(2-3), p149-157.
- [80] Dreher, M. (2017). Antioxidants. In: R. Baran and H. Maibach, ed., *Textbook of Cosmetic Dermatology*, 5th ed. CRC Press, p80-85.
- [81] Gupta, S.S., Singh, O., Bhagel, S.P., Moses, S., Shukla, S., Mathur, K.R. (2011). Honey Dressing Versus Silver Sulfadiazene Dressing for Wound Healing in Burn Patients: A Retrospective Study. *Journal of Cutaneous Aesthetic Surgery*. 4 (3), p183–187.
- [82] Τυμπανίδου, Π. (2009). Ηλιακά εγκαύματα. Available: <http://www.healthview.gr/1169/%CE%B7%CE%BB%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CE%AC%CE%B5%CE%B3%CE%BA%CE%B1%CF%8D%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1/>. Last accessed 28th May 2018.
- [83] Gunn, H. (2018). *Sunburn (solar erythema)*. Available: <https://www.dermatologyadvisor.com/dermatology/sunburn-solar-erythema/article/691498/>. Last accessed 28th May 2018.
- [84] (2018). *Sunburn*. Available: <https://www.webmd.com/skin-problems-and-treatments/guide/sunburn#1>. Last accessed 28th May 2018.
- [85] ANZBA Course Manual. Emergency Management of Severe Burns. 18th 2016. Australian and New Zealand Burn Association
- [86] Devgan, L., BA, Bhat, S., Aylward, S., Spence, J.R. (2006). Modalities for the Assessment of Burn Wound Depth. *Journal of Burns and Wounds*. 5 (5), p7-10.
- [87] Jackson, D.M. (1953). The diagnosis of the depth of burning. *British Journal of Surgery*. 40 (164), p588-596.
- [88] Shupp, J.W., Nasabzadeh, T.J., Rosenthal, D.S., Jordan, M.H., Fidler, P., Jeng, J.C. (2010). A review of the local pathophysiologic bases of burn wound progression.. *Journal of Burn Care & Research*. 31 (6), p849–873.

- [89] Loos, M.S., Freeman, B.G., Lorenzetti, A. (2010). Zone of injury: a critical review of the literature.. *Annals of Plastic Surgery*. 65 (6), p573-577.
- [90] Singh, V., Devgan, L., Bhat, S., Milner, S.M. (2007). The pathogenesis of burn wound conversion.. *Annals of Plastic Surgery*.. 59 (1), p109-115.
- [91] Johnson, R.M., Richard, R. (2003). Advances in Skin & Wound Care. *Partial-thickness burns: identification and management*.. 16 (4), p178-187.
- [92] Church, D., Elsayed, S., Reid, O., Winston, B., Lindsay, R. (2006). Burn Wound Infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 19 (2), p403–434.
- [93] Kang, Y.O., Yoon, I.S., Lee, S.Y., Kim, D.D., Lee, S.J., Park, W.H., Hudson, S.M. (2010). Chitosan-coated poly(vinyl alcohol) nanofibers for wound dressings. *J. Biomed. Mater. Res. B .Appl. Biomater*. 92 (2), p568-576.
- [94] Jones, V., Grey, E.J., Harding, G.K. (2006). Wound dressings. *British Medical Journal*. 332 (7544), p777–780.
- [95] Kamoun, A.E., Kenawy, S.E., Chen, X. (2017). A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. *Journal of Advanced Research*. 8 (3), p217–233.
- [96] (2018). *Choosing the proper wound dressing assists with wound healing*. Available: <https://www.advancedtissue.com/different-types-wound-care-dressings/>. Last accessed 27th May 2018.
- [97] (2016). *Dressing Types*. Available: <http://www.vicburns.org.au/minor-burns/dressing-selection/dressing-types/>. Last accessed 27th May 2018.
- [98] Kavanagh, S., de Jong, A., Nursing Committee of the International Society for Burn Injuries. (2004). Care of burn patients in the hospital.. *Burns*. 30 (8), pA2-A6.
- [99] (2014). *Wound Dressing for Burn Patients*. Available: <https://biotextiles2014.wordpress.com/wound-dressing-for-burn-patients/>. Last accessed 27th May 2018.
- [100] (2016). *5 Ways to Treat a Sunburn*. Available: <https://www.skincancer.org/prevention/sunburn/five-ways-to-treat-a-sunburn>. Last accessed 28th May 2018.
- [101] Vargas, E.A., do Vale Baracho, N.C., de Brito, J., de Queiroz, A.A. (2010). Hyperbranched polyglycerol electrospun nanofibers for wound dressing applications. *Acta Biomater*. 6 (3), p1069-1078.
- [102] Zhijun, Ma., Huijiao, Jib., Dezhi, Tan., Yu, Teng., Guoping, Dong., Jiajia, Zhou., Jianrong, Qiu., Ming, Zhang.. (2011). Silver nanoparticles decorated, flexible SiO₂ nanofibers with long-term antibacterial effect as reusable wound cover. *Colloids and Surfaces*

A: *Physicochemical and Engineering Aspects*. 387 (1-3), p57-64.

[103] Lin, J., Li, C., Zhao, Y., Hu, J., Zhang, L.M.. (2012). Co-electrospun nanofibrous membranes of collagen and zein for wound healing.. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 4 (2), p1050-1057.

[104] Shalumon, K.T., Anulekha, K.H., Nair, S.V., Nair, S.V., Chennazhi, K.P., Jayakumar, R. (2011). Sodium alginate/poly(vinyl alcohol)/nano ZnO composite nanofibers for antibacterial wound dressings. *Int. J. Biol. Macromol.* 49 (3), p247-254.

[105] Yazhou, Wang., Weili, Qiao., Bochu, Wang., Yiqiong, Zhang., Pengyu, Shao., Tieying, Yin. (2011). Electrospun composite nanofibers containing nanoparticles for the programmable release of dual drugs. *Polymer Journal* . 43 , p478-483.

[106] Bond, B.A. (1999). *Caring for a Sunburn*. Available: <https://www.care2.com/greenliving/caring-for-a-sunburn.html>. Last accessed 27th May 2018.

[107] Huang, M-H., Li, S., Vert, M., 2004. Synthesis and degradation of PLA–PCL–PLA triblock copolymer prepared by successive polymerization of ϵ -caprolactone and dl-lactide. *Polymer*, 45(26), pp. 8675-8681.

[108] Kladi, K., Tsivintzelis, I., Filippou, I., Panayiotou, C.. (2006). Electrospinning of Biodegradable Polymer nanofibers.

[109] Κοτρώνη, Ε., 2015. *Μελέτη εγκλεισμού εκχυλισμάτων φυτών της οικογένειας Boraginaceae σε νανοΐνες*. Πτυχιακή Εργασία. Τμήμα Χημικών Μηχανικών: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

[110] Amaral, I.M.S.R.F. (2005). *Chitosan matrices for cell-based bone regenerative therapies*. PhD thesis, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, Portugal.

[111] Villanova, J.C.O., Oréfice, R.L. (2010). Aplicações farmacêuticas de polímeros.

[112] Ratner, B.D., Hoffman. A.S., Schoen, F.J., Lemons, J. (2004). Biomaterials Science: A Multidisciplinary Endeavor. *Biomaterials Science*, 16, p1-19.

[113] Okada, M. (2001). Chemical syntheses of biodegradable polymers. *PROGRESS IN POLYMER SCIENCE*. 27, pp.87-133. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 20(1), p51–64.

[114] Liang, D., Hsiao, B.S., Chu, B. (2007). Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications. *Advanced DRUG DELIVERY Reviews*, 59, p1392-1412.

[115] Hua, S., Ma, H., Li, X., Yang, H., Wang, A. (2010). pH-sensitive sodium alginate/poly (vinyl alcohol) hydrogel beads prepared by combined Ca^{2+} crosslinking and freeze-thawing cycles for Controlled release of diclofenac sodium. *Int. J. Biol. Macromol.*. 46 (5), p517-523.

- [116] Li, Z., Ramay, H.R., Hauch, K.D., Xiao, D., Zhang, M.. (2005). Chitosan-alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 26 (18), p3919-3928.
- [117] Cui, W., Zhou, Y., Chang, J. (2010). Electrospun nanofibrous materials for tissue engineering and drug delivery. *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 11, p11.
- [118] Quansah, J.K. Synthetic polymers for biocompatible biomaterials. Materials literature seminar.Sep. 23 2004. Διαθέσιμο στο: www.chemistry.illinois.edu/research/materials/seminar_abstract_/2004_2005/Quansah.Abstract.LitSeminar.pdf. April 13 2012.
- [119] Kai, D., Liow, S.S., Loh, X.J. (2014). Biodegradable polymers for electrospinning: Towards biomedical applications. *Materials Science and Engineering C*, 45, p659-670.
- [120] SIGMA-ALDRICH®. (2015) *Poly(D,L-lactide-co-glycolide)*. [Online] Available from: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/719870?lang=en®ion=GR>. [Accessed: 25th May 2015].
- [121] Safdari, F., Carreau, J.P., Heuzey, C.M., Musa R. Kamal, R.M., Sain, M.M.. (2017). Enhanced properties of poly(ethylene oxide)/cellulose nanofiber biocomposites. *Cellulose*. 24 (2), p755–767.
- [124] Fan, L., Cao, M., Gao, S., Wang, T., Wu, H., Peng, M., Zhou, X., Nie, M.. (2013). Preparation and characterization of sodium alginate modified with collagen peptides.. *Carbohydr. Polym.* 93 (2), p380-385.
- [125] Ionita, M., Pandeale, A.M., Iovu, H.. (2013). Sodium alginate/graphene oxide composite films with enhanced thermal and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*. 94 (1), p339-344.
- [126] Huang, Z-M., Zhang, Y.-Z., Kotaki, M., Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Science and Technology*, 63, p 2223–2253.
- [127] Malafaya, P.B., Silva, G.A., Reis, R.L.(2007). Natural–origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, p207–233.
- [128] PubChem, (2015). *Type II Collagen Fragment*. [Online] Available from: . [Accessed: 26th May 2018].
- [129] Konwarh, R., Karak, N., Misra, M. (2013). Electrospun cellulose acetate nanofibers: The present status and gamut of biotechnological applications. *Biotechnology Advance*, 31, p 421–437.
- [130] Tungprapa, S., Jangchud, I., Supaphol, P. (2007). Release characteristics of four model drugs from drug-loaded electrospun cellulose acetate fiber mats. *Polymer*, 48, p5030–5041.

- [131] Fan, L., Ge, H., Zou, S., Xiao, Y., Wen, H., Li, Ya., Feng, H., Nie, M. (2016). Sodium alginate conjugated graphene oxide as a new carrier for drug delivery system. *International Journal of Biological Macromolecules*. 93, p582-590.
- [132] Sigma-Aldrich.(2018). *Poly(ethylene oxide)*. Available: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/polyethyleneoxide123452532268311?lang=en&ion=GR>. Last accessed 9th April 2018.
- [133] Hon, N. S. (1977). Photodegradation of Cellulose Acetate Fibers, *Journal of Applied Polymer Science*, 15, p725-744.
- [134] Czaja, W.K., Young, D.J., Kawecki, M., Malcolm Brown, R., Jr. (2007). The Future Prospects of Microbial Cellulose in Biomedical Applications. *Biomacromolecules*, 8(1), p1–12.
- [135] Tungprapa, S., Puangparn, T., Weerasombut, M., Jangchud, I., Fakum, P., Semongkhon, S., Meechaisue, C., Supaphol, P. (2007). Electrospun cellulose acetate fibers: effect of solvent system on morphology and fiber diameter. *Cellulose 2007b*, 14, p563–575.
- [136] Chen, L., Bromberg L., Hatton, T.A., Rutledge, G.C. (2008). Electrospun cellulose acetate fibers containing chlorhexidine as a bactericide. *Polymer*, 49(5), p1266–1275.
- [137] Suwantong, O., Opanasopit, P., Ruktanonchai, U., Supaphol, P. (2007). Electrospun cellulose acetate fiber mats containing curcumin and release characteristic of the herbal substance. *Polymer*, 48, p7546–7557.
- [138] Kenawy, E.R., Bowlin, G.L., Mansfield, K., Layman, J., Simpson, D.G., Sanders, E.H, Wnek, G.E. (2002). Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene vinyl acetate), poly(lactic acid), and a blend. *J Control Release*, 81(1–2), p57–64.
- [139] Chien, Y.W. (1992). Novel drug delivery systems, Vol. 50. NY: Marcel Dekker, New York.
- [140] Schiller, G. (2014). Therapeutic Use of Aleppo Pine (*Pinus halepensis* Mill.). In: Yaniv, Z., Dudai, N *Medicinal and Aromatic Plants of the Middle-East*. Natherlands: Springer Netherlands. p215-224.
- [141] Fekih, N., Allali, H., Merghache, S., Chaïb, F., Merghache, D., El Amine, M., Djabou, N., Muselli, A., Tabti, B., Costa, J. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Pinus halepensis* Miller growing in West Northern of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 4 (2), p97–103.
- [142] Dhibi, M., Mechri, B., Brahmi, F., Skhiri, F., Alsaif, M.A., Hammami, M. (2012). Fatty acid profiles, antioxidant compounds and antiradical properties of *Pinus halepensis* Mill. cones and seeds.. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92 (8), p1702-1708.

- [143] Beachley, V., Wen, X. (2010). Polymer nanofibrous structures: Fabrication, biofunctionalization, and cell interactions. *Progress in Polymer Science*, 35, p868–892.
- [144] Trachtenberg, J.E., Kurtis Kasper, F., Mikos, A.G. (2014). *Polymer Scaffold Fabrication*. In: Lanza, R., Langer, R., Vacanti, J. (eds). *Principles of Tissue Engineering*. 4th edition. Houston, Texas.
- [145] Lim, E-H., Sardinha, J.P., Myers, S. (2013). Nanotechnology Biomimetic Cartilage Regenerative Scaffolds. *Arch. Plast. Surg.*, 2014, 41(3), p231-240.
- [146] SIGMA-ALDRICH®. (2015) *Poly(dichlorophosphazene)*. [Online] Available from: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/654035?lang=en®ion=GR>. [Accessed: 25th May 2018].
- [147] Department of Polymer Science, (2003). Polyurethane. University of Southern Mississippi. [Online] Available from: . [Accessed: 25th May 2018].
- [148] SIGMA-ALDRICH®. (2015) *Poly(glycerol sebacate)*. [Online] Available from: [http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?interface=All&term=Poly\(glycerol%20sebacate\)&N=0&focus=product&lang=en®ion=GR](http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?interface=All&term=Poly(glycerol%20sebacate)&N=0&focus=product&lang=en®ion=GR). [Accessed: 26th May 2018].
- [149] Theron, S.A., Yarin, A.L., Zussman, E., Kroll, E. (2005). Multiple jets in electrospinning: experiment and modeling. *Polymer*, 46, p2889–2899.
- [150] Tomaszewski, W., Szadkowski, M. (2005). Investigation of electrospinning with the use of a multi-jet electrospinning head. *Fibres Text. East Eur.*, 13, p22–26.
- [151] Dosunmu, O.O., Chase, G.G., Kantaphinan, W., Reneker, D.H. (2006). Electrospinning of polymer nanofibres from multiple jets on a porous tubular surface. *Nanotechnology*, 17, p1123–1127.
- [152] Varabhas, J.S., Chase, G.G., Reneker, D.H. (2008). Electrospun nanofibers from a porous hollow tube. *Polymer*, 49, p4226–4229.
- [153] Luo, C.J., Stoyanov, S.D., Stride, E., Pelan, E., Edirisinghe, M. (2012). Electrospinning versus fibre production methods: from specifics to technological convergence. *Chem. Soc. Rev.*, 2012, 41, p4708–4735.
- [154] Kontogiannopoulos, K.N., Assimopoulou, A.N., Tsivintzelis, I., Panayiotou, C., Papageorgiou, V.P. (2011). Electrospun fiber mats containing shikonin and derivatives with potential biomedical applications. *Int. J. Pharm.*, 409(1–2), p216–228.
- [155] Valarezo Valdez, B.E. (2013). *Innovative processes for the production of new nanocomposite materials by electrospinning technique*. Ph.D. University of Salerno.
- [156] Yu, D-G., Zhu, L-M., White, K., Branford-White, C. (2009). Electrospun nanofiber-based drug delivery systems. *Health*. 1 (2), p67-75.
- [157] Hsu, C. (2003). *Electrospinning of Poly(ϵ -Caprolactone)*. MSc. Worcester Polytechnic Institute.

- [158] Vacanti, N.(2010). *Investigation of Electrospun Fibrous Scaffolds, Locally Delivered Anti-inflammatory Drugs, and Neural Stem Cells for Promoting Nerve Regeneration*. MSc. Massachusetts Institute of Technology.
- [159] Kladi, K.P., Marras, S.I., Philippou, J., Tsivintzelis, I., Panayiotou, C.(2005). *Fibrous Scaffolds by Electrospinning of Poly(ϵ -caprolactone)/Layered Silicate Nanocomposites*, 3rd International Symposium on Nanomanufacturing (ISNM 2005), Limassol - Cyprus, 2005.
- [160] Jun, Z., Hou, H., Schaper, A., Wendorff, J.H. Greiner A.(2003). Poly-L-lactide nanofibers by electrospinning — influence of solution viscosity and electrical conductivity on fiber diameter and fiber morphology. *e-Polym*, 9, p1–9.
- [161] Kim, B., Park, H., Lee, S.H., Sigmund, W.M. (2005). Poly (acrylic acid) nanofibers by electrospinning. *Mater. Lett.*, 59, p829–832.
- [162] Demir, M.M., Yilgor, I., Yilgor, E., Erman, B. (2002). Electrospinning of polyurethane fibers. *Polymer*, 43, p3303–3309.
- [163] Nair, L.S., Laurencin, C.T.(2007). Biodegradable polymers as biomaterials. *PROGRESS IN POLYMER SCIENCE*. 27, p762-798.
- [164] Zhang ,C., Yuan, X., Wu, L., Han, Y. Sheng J.(2005b). Study on morphology of electrospun poly (vinyl alcohol) mats. *Eur. Polym. J.*, 41, p423–432.
- [165] Zuo, W.W., Zhu, M.F., Yang, W., Yu, H., Chen, Y.M., Zhang, Y.(2005). Experimental study on relationship between jet instability and formation of beaded fibers during electrospinning. *Polym. Eng. Sci.*, 45, p704–709.
- [166] Sill, T.J., Recum, H.A.V.(2008). Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*, 29, p1989–2006.
- [167] Okada, M.(2001). Chemical syntheses of biodegradable polymers. *PROGRESS IN POLYMER SCIENCE*. 27, p87-133.
- [168] Buchko, C.J., Chen, L.C., Shen, Y., Martin, D.C.(1999). Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer*, 40, p7397–7407.
- [169] Geng, X., Kwon, O.H., Jang, J.(2005). Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*, 26, p5427–5432.
- [170] Ki, C.S., Baek, D.H., Gang, K.D., Lee, K.H., Um, I.C., Park, Y.H. (2005). Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution. *Polymer*, 46, p5094–5102.
- [171] Jiang, H.L., Fang, D.F., Hsiao, B.S., Chu, B., Chen, W.L. (2004). Optimization and characterization of dextran membranes prepared by electrospinning. *Biomacromolecules*, 5, p326–333.

- [172] Jun, Z., Hou, H., Schaper, A., Wendorff, J.H. Greiner A. (2003). Poly-L-lactide nanofibers by electrospinning — influence of solution viscosity and electrical conductivity on fiber diameter and fiber morphology. *e-Polym*, 9, p1–9.
- [173] Koski, A., Yim, K., Shivkumar, S. (2004). Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. *Mater. Lett.*, 58, p493–497.
- [174] Li, D., Xia, Y.(2004). Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel. *Adv. Mater.*, 16, p1151–1170.
- [175] Mit-uppatham, C., Nithitanakul, M., Supaphol, P. (2004). Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of solution conditions on morphology and average fiber diameter. *Macromol. Chem. Phys.*, 205, p2327–2338.
- [176] Casper, C.L., Stephens, J.S., Tassi, N.G., Chase, D.B., Rabolt, J.F.(2004). Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. *Macromolecules*, 37, p573–578.
- [177] Reneker, D.H., Chun, L. (1996). Nanometre diameters of polymer, produced by electrospinning. *Nanotechnology*, 7, p216–223.
- [178] (2012). *Medical textiles: Nanofiber-based 'smart' dressings for burn wounds*. Available: <https://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=25577.php>. Last accessed 29th May 2018.
- [179] Yu, D-G., Zhu, L-M., White, K., Branford-White, C. (2009). Electrospun nanofiber-based drug delivery systems. *Health*. 1 (2), p67-75.
- [180] Weng, L., Xie, J.(2017). Smart Electrospun Nanofibers for Controlled Drug Release: Recent Advances and New Perspectives. *Curr Pharm Des.* 21 (15), p1944–1959.
- [181] Abrigo, M., McArthur, L.S., Kingshott, P. (2014). Electrospun Nanofibers as Dressings for Chronic Wound Care: Advances, Challenges, and Future Prospects. *Macromolecular Bioscience*. 14 (6), p772-792.
- [182] Su, Y.L., Sumi, B., Sumi, K., Seong, Y.J., Bum-Chul, Kim., Yunjae, H., Insup, N. (2015). Synthesis and in vitro characterizations of porous carboxymethyl cellulose-poly(ethylene oxide) hydrogel film. *Biomaterials Research*. 19 (12), p1-11.
- [183] Blessing, A.A., Buhle, B.(2018). Alginate in Wound Dressings. *Pharmaceutics*. 10 (2), p1-19.
- [184] Nguyen, V.T., Ko, S.C., Oh, G.W., Heo, S.Y., Jeon, Y.J., Park, W.S., Choi, I.W., Choi, S.W., Jung, W.K. (2016). Anti-inflammatory effects of sodium alginate/gelatine porous scaffolds merged with fucoidan in murine microglial BV2 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*. 93, p1620-1632.
- [185] Berardesca, E., Maibach, H.I. (1988). Bioengineering and the patch test.. *Contact Dermatitis*. 18 (1), p3-9.

[186] Eaglstein, W.H. (1984). *Burns*.

[187] Hermans, M.H.E., Hermans, R.P. (1984). Preliminary report on the use of a new hydrocolloid dressing in the treatment of burns. *Burns*. 11 (2), p125-129.